



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO

FACULTAD DE CIENCIAS

ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA

**“PARÁMETROS ANALÍTICOS EN LA CUANTIFICACIÓN DE COCAÍNA EN
VARIAS MATRICES POR CROMATOGRAFÍA DE GASES EN EL
LABORATORIO DE QUÍMICA FORENSE DE LA POLICÍA JUDICIAL
CHIMBORAZO”**

TESIS DE GRADO

PREVIA LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE

BIOQUÍMICO FARMACEÚTICO

PRESENTADO POR

JUAN CARLOS ORTIZ GUEVARA

TUTOR

Dr. Segundo Trujillo A.

RIOBAMBA – ECUADOR

2014

DEDICATORIA

El presente trabajo esta dedicado a mi mami Beatriz Guevara y papi Antonio Ortiz, ellos en los momentos más difíciles de mi vida nunca han dejado que me rinda y he seguido adelante, apoyándome en todo sentido con sus palabras.

A mis Hermanos Luz María y Mauricio por siempre cuidar de mí en todo este tiempo, al ser un ejemplo para poder culminar mi carrera.

AGRADECIMIENTO

A mi Dios, por el cual estoy cada día con vida y es el que me da fuerza en cada momento para continuar, el me enseña a levantarme después de cada caída con más fuerza y seguir adelante.

A la Escuela de Bioquímica y Farmacia de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo por darme la adecuada formación para mi vida profesional.

Al Departamento de Criminalística de la Policía Judicial de Chimborazo, por permitirme llevar acabo mi investigación, en especial al Dr. Wilson Moncayo M., jefe del departamento de Química Forense, él me guío y orientó a realizar la parte experimental de mi trabajo.

A Dr. Segundo Trujillo A. director de tesis, sin su ayuda la culminación de este trabajo no hubiera sido posible.

Al Bqf. Fausto Contero B. colaborador de Tesis, por sus sabios consejos y las ganas de seguir adelante que me ha brindado con sus palabras; a Diego Vinueza T. por volverse un amigo más que profesor.

A mis papis por siempre estar a mí lado en todo momento; no me alcanzaría una vida para agradecerles.

A mis hermanos por siempre estar pendiente de mí, y ser una guía para poder alcanzar mi objetivo, siempre teniendo en mente, que todo es posible con humildad.

A mis amigos por todos los grandes momentos brindados a lo largo de mi carrera, buenos, malos y terribles, pero más buenos, son parte de la experiencia que me ayudan a engrandecer.

RESUMEN

Se realizó los parámetros analíticos en la cuantificación de cocaína por cromatografía de gases, en el Laboratorio de Química Forense de la Policial Judicial de Chimborazo, para que el método utilizado por cromatografía de gases en la cuantificación de cocaína tenga como objetivo que los resultados sean veraces y confiables sirviéndonos para su futura validación del método.

Al momento de evaluar si el intervalo de trabajo es satisfactorio se desarrollan los criterios de aceptación, precisión, exactitud y linealidad, se toma en cuenta que para evaluar la precisión se la desarrolla en términos de repetibilidad.

Se realizó en un rango de concentraciones diferentes, la linealidad se la hizo en ascenso desde 5 µg/mL hasta 30 µg/mL, con intervalos de 5 µg/mL, así mismo se desarrolla para la exactitud con intervalos de 10 µg/mL a 30 µg/mL denominándolas concentraciones baja media y alta respectivamente, y la precisión se preparó en 6 soluciones a 20 µg/mL que representa una concentración del 100%.

La cuantificación de cocaína en la muestra de análisis y comparada con un estándar de cocaína nos dio como resultados en la linealidad: el coeficiente de correlación, $r = 0.9725665$, es un valor muy próximo a la unidad: en la exactitud se obtiene un promedio aritmético del porcentaje de recobro de 98.88%: y en la precisión en su coeficiente de variación global dio como resultado 1.28%, cumpliendo con los parámetros estadísticos. En conclusión los parámetros analíticos, si presentaron linealidad, exactitud y repetibilidad para la cuantificación de cocaína (*Metil benzoilecgonina*), en el estudio y el método realizado por tanto la muestra de análisis contiene de cocaína.

Se recomienda la implementación y validación del método de cuantificación de cocaína por cromatografía de gases en el Laboratorio de Química Forense de la Policía Judicial de la Provincia de Chimborazo.

SUMARY

He was the analytical parameters in the quantification of cocaine by gas chromatography, in the laboratory of forensic chemistry of the Police Court of Chimborazo, so that the method used by gas chromatography in the quantification of cocaine has as objective that the results are accurate and reliable serving us for future validation of the method.

When evaluating whether the range of work is satisfactory develops criteria for acceptance, precision, accuracy and linearity, is taken into account that to evaluate the precision he develops it in terms of repeatability.

Was performed in a range of different concentrations, the linearity is made rising from 5 $\mu\text{g/mL}$ up to 30 $\mu\text{g/mL}$, with intervals of 5 $\mu\text{g/mL}$, also develops for accuracy with intervals of 10 $\mu\text{g/mL}$ to 30 $\mu\text{g/mL}$ calling them concentrations low medium and high respectively, and the accuracy was prepared in 6 solutions to 20 $\mu\text{g/mL}$, which represents a concentration of 100%.

Quantitation of cocaine in the sample for analysis and compared to a standard of cocaine gave us as results in the linearity: the coefficient of correlation, $r = 0.9725665$, it is a value very close to the unit: the accuracy gets an arithmetic average of the percentage of recovery of 98.88%: and is precision in its global variation coefficient resulted in 1.28% complying with the statistical parameters.

In conclusion the analytical parameters, if they presented linearity, accuracy and repeatability for the quantification of cocaine (methyl benzoylecgonine), in the study and the method carried out therefore the sample for analysis contains cocaine.

Recommended the implementation and validation method of quantification of cocaine by gas chromatography in the laboratory of chemical forensic of the Police Court of the province of Chimborazo.

ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO

FACULTAD DE CIENCIAS

ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA

El tribunal de Tesis certifica que el trabajo de investigación: " **PARÁMETROS ANALÍTICOS EN LA CUANTIFICACIÓN DE COCAÍNA EN VARIAS MATRICES POR CROMATOGRAFÍA DE GASES EN EL LABORATORIO DE QUÍMICA FORENSE DE LA POLICÍA JUDICIAL CHIMBORAZO** " de responsabilidad del señor egresado Juan Carlos Ortiz Guevara, ha sido prolijamente revisado por los miembros del tribunal de Tesis, quedando autorizada su presentación.

FIRMA

FECHA

Dr. Silvio Álvarez L.
DECANO FAC. CIENCIAS

Dr. Francisco Portero G.
**DIRECTOR ESCUELA
BIOQUÍMICA Y FARMACIA**

Dr. Segundo Trujillo A.
DIRECTOR DE TESIS

Bqf. Fausto Contero B.
MIEMBRO DEL TRIBUNAL

Ing. Eduardo Tenelanda
**CORDINADOR DE
SISBIB - ESPOCH
NOTA TESIS**

Yo, Juan Carlos Ortiz Guevara, soy responsable de las ideas, doctrinas y resultados expuestos en esta tesis, y el patrimonio intelectual de la tesis de grado, pertenece a la ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO

JUAN CARLOS ORTIZ GUEVARA

ÍNDICE DE ABREVIATURAS

ADN	Ácido desoxirribonucleico
AAG	Ácido acético de glacial
AC	Antes de Cristo
CG	Cromatografía de gases
°C	Grados Celsius
CA	Columna abierta
CC	Columna capilar
CE	Columna empaquetada
CGS	Cromatografía gas-sólido
CGL	Cromatografía gas-líquido
Cm	Centímetro
Da	Dalton
E	Erytroxilon Coca
EPC	Controladores de presión electrónico
M	Muestra
ML	Mililitro
MB	Metil benzoilecgonina
MS	Margen de seguridad
HCL	Ácido clorhídrico
He	Helio
IV	Intravenosa
K	Kilo
P	Patrón
pH	Concentración de iones hidrógeno
SCN	Sistema nervioso central

TC	Tiocianato de cobalto
TLC	Cromatografía de capa fina
UV	Radiación ultra violeta
UNODC	Oficina de las Naciones Unidas contra la Droga y el Delito

ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE DE ABREVIATURAS

ÍNDICE DE CUADROS

ÍNDICE DE TABLAS

ÍNDICE DE GRÁFICOS

ÍNDICE DE FIGURAS

ÍNDICE DE FOTOGRAFÍAS

ÍNDICE DE ANEXOS

INTRODUCCIÓN

1.	MARCO TEÓRICO.....	3
1.1	La Coca, origen y taxonomía.....	3
1.2	Cultivo de la planta.....	4
1.3	Descripción botánica.....	5
1.4	Estructura, producción y toxicidad.....	6
1.5	Cromatografía.....	9
1.5.1	Cromatografía de capa fina.....	10
1.5.2	Cromatografía de gases.....	12
1.5.3	Cromatografía gas – líquido.....	13
1.5.4	Cromatógrafo utilizado en LQFPCH.....	17
1.6	Parámetros analíticos a evaluar por CGL.....	18
1.7	Cuantificación por varias matrices.....	19
1.8	Diseño experimental.....	20
1.8.1	Análisis estadístico.....	20
2.	PARTE EXPERIMENTAL.....	23
2.1	Lugar y ubicación.....	23
2.2	Materiales equipos y reactivos.....	23
2.3	Metodología.....	25
2.4.	Pruebas cualitativas.....	26
2.4.1	Determinación rganolépticas.....	26
2.4.2	Solubilidad.....	26
2.4.3	Reacciones de coloración, prueba de scoot.....	26
2.4.4	Ensayos de microcristalografía.....	27
2.4.5	Cromatografía en capa fina.....	27
2.5	Pruebas cuantitativas.....	28
2.5.1	Características de operación del C.G.L.....	28
2.6	Preparación de las soluciones para linealidad, exactitud, precisión (estándar y muestra).....	28
2.6.1	Solución patrón (estándar).....	28
2.6.2	Preparación del patrón interno (muestra)	28

2.7	Diseño experimental de la investigación y análisis estadístico.....	30
2.7.1	Linealidad.....	30
2.7.2	Exactitud.....	31
2.7.3	Repetibilidad.....	32
3	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	33
3.1	Ensayos cualitativos.....	33
3.1.1	Análisis organoléptico.....	33
3.1.2	Análisis de la solubilidad.....	34
3.1.3	Microcristalografía y prueba de ensayo.....	34
3.1.4	Cromatografía en capa fina.....	35
3.1.4.1	TLC solventes hexano: tolueno: dietilamina.....	35
3.1.4.2	TLC solventes cloroformo y metanol.....	36
3.2	Ensayos cuantitativos.....	36
3.2.1	Determinación de la linealidad por cromatografía de gases.....	37
3.2.1.1	Cuadro resumen de los resultados a diferentes concentraciones.....	43
3.2.2	Evaluación de la exactitud por cromatografía de gases.....	45
3.2.3	Evaluación de la precisión por cromatografía de gases.....	47
	CONCLUSIONES.....	49
	RECOMENDACIONES.....	50
	BIBLIOGRAFÍA.....	51
	ANEXOS.....	54

ÍNDICE DE CUADROS

CUADRO No. 1	Resultados organoléptico.....	33
CUADRO No. 2	Determinación de la solubilidad.....	34
CUADRO No. 3	Determinación de microcristalografía y prueba de scott.....	34
CUADRO No. 4	Resultados de TLC para el estándar base de cocaína (P), y la muestra de análisis (M).....	35
CUADRO No. 5	Resultados de TLC para el estándar base de cocaína (P), y la muestra de análisis (M)	36
CUADRO No. 6	Análisis obtenidos por el cromatógrafo de gases para la droga cocaína 25%.....	37
CUADRO No. 7	Análisis obtenidos por el cromatógrafo de gases para la droga cocaína 50%.....	38
CUADRO No. 8	Análisis obtenidos por el cromatógrafo de gases para la droga cocaína 75%.....	39
CUADRO No. 9	Análisis obtenidos por el cromatógrafo de gases para la droga cocaína 100%.....	40
CUADRO No. 10	Análisis obtenidos por el cromatógrafo de gases para la droga cocaína 125%.....	41
CUADRO No. 11	Análisis obtenidos por el cromatógrafo de gases para la droga cocaína 150%.....	42
CUADRO No. 12	Resultados obtenidos para la evaluación de la linealidad por el método de cromatografía de gases.....	43
CUADRO No. 13	Análisis estadístico para la linealidad del método de cromatografía de gases.....	44
CUADRO No. 14	Resultados obtenidos para la evaluación de la exactitud por el método de cromatografía de gases.....	45
CUADRO No. 15	Parámetros estadísticos evaluados para el análisis de la exactitud por el método de cromatografía de gases.....	46
CUADRO No. 16	Resultados obtenidos para la evaluación de la repetibilidad por el método de cromatografía de gases en la precisión.....	47

CUADRO No. 17	Parámetros estadísticos evaluados para el análisis de la precisión	48
	por el método de cromatografía de gases.....	

ÍNDICE DE TABLAS

TABLA No. 1	Taxonomía de la hoja de coca	4
-------------	------------------------------------	---

ÍNDICE DE GRAFICOS

GRÁFICO No. 1	Regresión lineal (relación concentración respuesta cocaína Vs. factor de respuesta al 25%).....	37
GRÁFICO No. 2	Regresión lineal (relación concentración respuesta cocaína Vs. factor de respuesta al 50%).....	38
GRÁFICO No. 3	Regresión lineal (relación concentración respuesta cocaína Vs. factor de respuesta al 75%).....	39
GRÁFICO No. 4	Regresión lineal (relación concentración respuesta cocaína Vs. factor de respuesta al 100%).....	40
GRÁFICO No. 5	Regresión lineal (relación concentración respuesta cocaína Vs. factor de respuesta al 125%).....	41
GRÁFICO No. 6	Regresión lineal (relación concentración respuesta cocaína Vs. factor de respuesta al 150%).....	42
GRÁFICO No. 7	Curva de calibración (relación Vs. respuesta para la linealidad).....	44

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGÚRA No. 1	<i>Erythroxylum Coca</i> A, la hoja B, corte trasversal C, la flor D, fruto E.....	5
FIGÚRA No. 2	Estructura química de la Cocaína (<i>Metil benzoilecgonina</i>).....	6
FIGÚRA No. 3	Diagrama de flujo en el que se muestra la producción ilícita de cocaína a partir de las hojas de coca.....	7
FIGÚRA No. 4	Diagrama de una placa típica de TLC.....	11
FIGÚRA No. 5	Representación esquema básico de un (CG).....	15
FIGÚRA No. 6	Inyector de muestra para un C. G. L	17
FIGÚRA No. 7	Efectos de temperatura sobre los cromatógrafo	17

ÍNDICE DE FOTOGRAFÍAS

FOTOGRAFÍA No. 1	Placa cromatográfica TLC del estándar y muestra en análisis.	35
FOTOGRAFÍA No. 2	Placa cromatográfica TLC del estándar y muestra en análisis.	36
FOTOGRAFÍA No. 3	Muestras de cocaína para la cuantificación por cromatografía de gases.....	54
FOTOGRAFÍA No. 4	Cambio de color en la prueba de scott. Laboratorio de Química Forense de la Policía Judicial de Chimborazo julio 2013.....	54
FOTOGRAFÍA No. 5	Placa cromatográfica para la identificación de cocaína.....	55
FOTOGRAFÍA No. 6	Resultados de la identificación de cocaína por TLC, se observó por medio de luz U.V.....	56
FOTOGRAFÍA No. 7	Preparación de las muestras para la inyección en el cromatógrafo de gases.....	57
FOTOGRAFÍA No. 8	Cromatógrafo de gases.....	57
FOTOGRAFÍA No. 9	Inyección de la muestra en el cromatografo de gases.....	57

ÍNDICE DE ANEXOS

ANEXO No. 1	Recepción de las muestras de cocaína.....	54
ANEXO No. 2	Prueba cualitativa para la cuantificación de cocaína.....	54
ANEXO No. 3	Proceso para la identificación de cocaína por cromatografía en capa fina.....	55
ANEXO No. 4	Cuantificación de cocaína por cromatografía de gases.....	56
ANEXO No. 5	Estadística de la regresión y análisis de varianza para el análisis de linealidad del método cromatografía de gases.....	57
ANEXO No. 6	Estadística de la regresión para el análisis de la exactitud.....	58

INTRODUCCIÓN

Cerca de 200 millones de personas de entre 15 y 64 años de edad consumen drogas, una de ellas es la cocaína. Este es un alcaloide que se localiza en las hojas de coca, de la especie de *Erythroxylon coca* productoras de diversos tamaños y aspectos.

Es muy considerable el aumento del uso de la cocaína, así mismo como la extracción en nuestra sociedad. Los americanos se han envuelto en un “romance” con estas drogas: cocaína, crack, éxtasis, etc., que son ilegales en los últimos 25-30 años, al utilizarla como un anestésico para tratar diferentes enfermedades que causen un fuerte dolor su uso es medicinal, pero al momento que su administración sea un abuso, pasa a ser adictiva.

En todo el mundo y en el Ecuador el narcotráfico es una de las grandes amenazas que se trata de erradicar, para lo cual el gobierno ha incrementado centros de investigación como laboratorios especializados en la detección de drogas, que ayuden a sancionar a las personas que realizan esta actividad sea desde su producción, fabricación, tráfico, uso o tendencia. (RIOFRIO R. 2010)

Así mismo que se han creado leyes más fuertes para poder combatir con este negocio, es necesario pruebas concretas y específicas que sean de utilidad y den fortalecimiento a la justicia con resultados y conclusiones concretos. El Laboratorio de Química Forense de la Policía Judicial Chimborazo –LQFPCH-, es uno de los laboratorios especializados donde realizan los análisis de identificación de drogas entre otros ensayos.

La identificación de cocaína es una de las pruebas más realizadas en el -LQFPCH, en el año 2013 en el mes de julio se realizaron alrededor de 180 pruebas de un solo caso que se presentó en la Provincia de Chimborazo, como se encuentra en los archivos de –LQFPCH-. Tomamos en cuenta para la identificación de cocaína o presunción, se realiza una prueba cualitativa.

La ONU redacta los métodos para la identificación de diferentes drogas, el objetivo principal de la ONU es beneficiar a los seres humanos. Los métodos que se emplean van a variar de acuerdo a las diferentes problemáticas que se encuentran en los medios, pueden ser físicas, químicas o biológicas. A través de pruebas de verificación de presencia de cocaína, el -LQFPCH- tiene como misión emitir certificación que sea confiable, que incluso puedan ser validadas por otros laboratorios. (LIZCANO C. et al. 2001)

CAPÍTULO I

1. MARCO TEÓRICO

1.1 LA COCA. ORIGEN Y TAXONOMÍA

La designación de la palabra “coca” proviene de la lengua boliviana aymará, ésta significa: comida, alimento de los viajeros. Su procedencia indica al antiguo juicio de que el masticar las hojas permite efectuar largas caminatas, arduos trabajos consumiendo una pequeña cantidad de alimentos. (CURTIS D. 1999)

De las hojas del arbusto del coca (*Erythroxylon coca*), se obtiene la cocaína que hace varios años las culturas incaicas lo masticaban, y sus beneficio era el ser un estimulante, protector del hambre y un gran potenciador de energía. (AMAYA V. 2010)

ORIGEN. Su origen inicialmente es en los Andes por los valles del Cauca, su cultivo se lo ha expandido por América del Sur y en algún estado Africano e Indonesia. El uso de la cocaína se hace desde el año 4000 A.C., se la utilizaba para asistir al difunto en la otra vida. (BANQUERO D. 2006)

En el siglo XIX ya se conocía a las hojas de coca, logrando una fama impresionante y admirable, es así que el químico Ángelo Mariani importa una gran cantidad de toneladas de la hoja de coca, para así poder fabricar un vino que se llamaría por su apellido. Mariani logró una gran aceptación que la gente conociera su vino e incluso lo hizo tan famoso como la coca lo era en Perú. Mucha gente comenzó a darle una frase solemne al dichoso vino, a éste lo decían “Nueva vida, nuevo vigor”. En aquellos años era catalogado como un vino estimulante que fortalece, refresca y restaura las fuerzas vitales, por lo tanto tenía una gran acogida por sus efectos, beneficios, inmediatos y duraderos, médicos, instituciones y religiones de todo lugar hicieron un uso continuado de este vino. (CURTIS D. 1999)

En el año 1860, Albert Nieman aísla el principio activo de la coca, al que lo nombra como cocaína; en 1862 Wilhelm Lossen establece la fórmula química específica dándole el nombre de *Metil benzoilecgonina*, en el año 1884 comienza a utilizarse como anestésico en las primeras operaciones quirúrgicas. (BANQUERO D. 2006)

TAXONOMÍA

Nombre común o vulgar	Coca
Nombre Científico	<i>Erythroxylon coca</i>
Reino	Plantae
Subreino	Tracheobionta
Filo	Magnoliophyta
Clase	Magnoliopsida
Subclase	Rosidae
Orden	Linales
Familia	Erythroxylaceae
Genero	Erythroxylum
Especie	coca

TABLA No. 1. Taxonomía de la hoja de coca

1.2 CULTIVO DE LA PLANTA

La coca crece en ambientes de las siguientes características:

CLIMA. Las condiciones óptimas se dan en un clima húmedo de manera constante, a una temperatura que oscila alrededor de los 18 a 19 °C. A temperaturas inferiores a las antes mencionadas, provoca la muerte del vegetal; mientras que a temperaturas más altas modifican su capacidad bioquímica para producir los principios activos que determinan su acción farmacológica (Honduras Silvestre)

HUMEDAD. Para un adecuado crecimiento de la planta de coca, se debe tener en cuenta la humedad que oscila alrededor del 60 – 80%, así mismo estas plantas tienen la

característica de crecer con una humedad de hasta 30 – 40%, pero no es lo adecuado para su cultivo. (Honduras Silvestre)

AGUA. Es aconsejable trabajar y utilizar el agua con un pH menor a 6, para lo cual se utiliza ácido fosfórico o ácido cítrico para lograr bajar el pH y se ajuste a lo requerido. (Honduras Silvestre)

SUELO. El suelo debe ser enriquecido con nutrientes, como pueden ser sustratos u otras sustancias, que ayuden a mantener un pH de alrededor 5,5 a 6,5, así el suelo es más poroso y adecuado para su cultivo. (Honduras Silvestre)

1.3 DESCRIPCIÓN BOTÁNICA

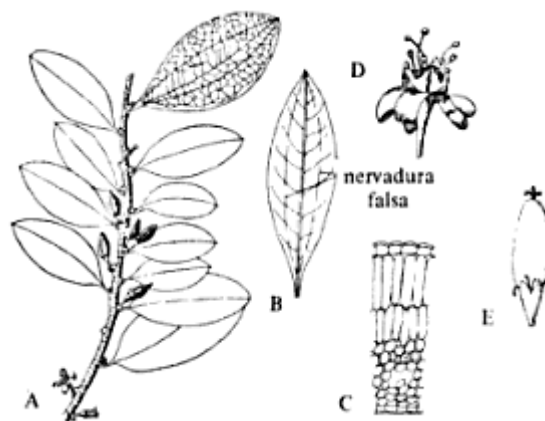


Figura No. 1. *Erythroxylon coca* A, La hoja B, corte transversal C, la flor D, fruto E.

Erythroxylon coca. Son arbustos bajos y muy ramificados, las hojas pueden variar en su forma, al presentarse ampliamente elípticas, poseen un color verde oscuro, sus hojas son lisas midiendo aproximadamente 9 cm de largo por 2 a 5 cm de ancho. (Figura No. 1-A) (BLOCH R. 2002)

LAS HOJAS. Las hojas presentan una nervadura falsa que se nota principalmente en el lado inferior, consiste en un par de rebordes muy delgados, paralelos al nervio central,

(Figura No. 1-B), estos rebordes resultan de la forma en que las hojas están enrolladas en la yema. (BLOCH R. 2002)

CORTE TRANSVERSAL. La estructura de la hoja (Figura No. 1-C), no presenta características notables. Debajo de la epidermis superior, formada por una capa de células de paredes exteriores cutinizadas, con cristales de oxalato de calcio. La porción parénquima presenta mucha clorofila, es aquí donde se encuentra los alcaloides, además aceites y sustancias astringentes. (BLOCH R. 2002)

LA FLOR. Las flores (Figura No. 1-D), tiene el cáliz cónico, de tubo muy delgado con cinco dientes. La corola de cinco pétalos libres y blancos es más o menos cerrada, casi de posición horizontal, unas presenta 10 estambres de diferente longitud y los cinco estilos más largos, o con los estambres de igual longitud. (BLOCH R. 2002)

EL FRUTO. El fruto ((Figura No. 1-E), es una drupa elipsoidal, de siete milímetros de largo, roja y con una sola semilla, ésta se desarrolla más de un óvulo de los tres que tiene el ovario. (BLOCH R. 2002)

1.4 ESTRUCTURA, PRODUCCIÓN Y TOXICIDAD

ESTRUCTURA QUÍMICA BÁSICA

Su nombre químico es de *Metil benzoilecgonina* (Mb), es un alcaloide tropano cristalino obteniéndose de la planta de la coca, es decir de las hojas específicamente, su fórmula corresponde a la de $C_{17}H_{21}NO_4$, con un peso molecular de 303,4. La cocaína es un estimulante del sistema nervioso central, siendo un gran supresor del apetito, así mismo como un anestésico local. (HURTADO A. 2009)

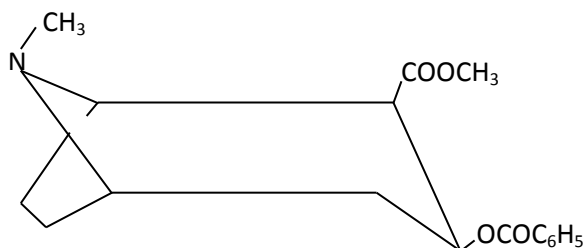


Figura No. 2. Estructura química de la cocaína (*Metil benzoilecgonina*).

FLUJOGRAMA DE LA EXTRACCIÓN DE LA COCAÍNA

Esta puede darse a cabo por varias formas, la que se detalla a continuación es una de las vías para la producción de cocaína, la obtención va a variar por la técnica que se utiliza, los reactivos y las cantidades. (HURTADO A. 2009)

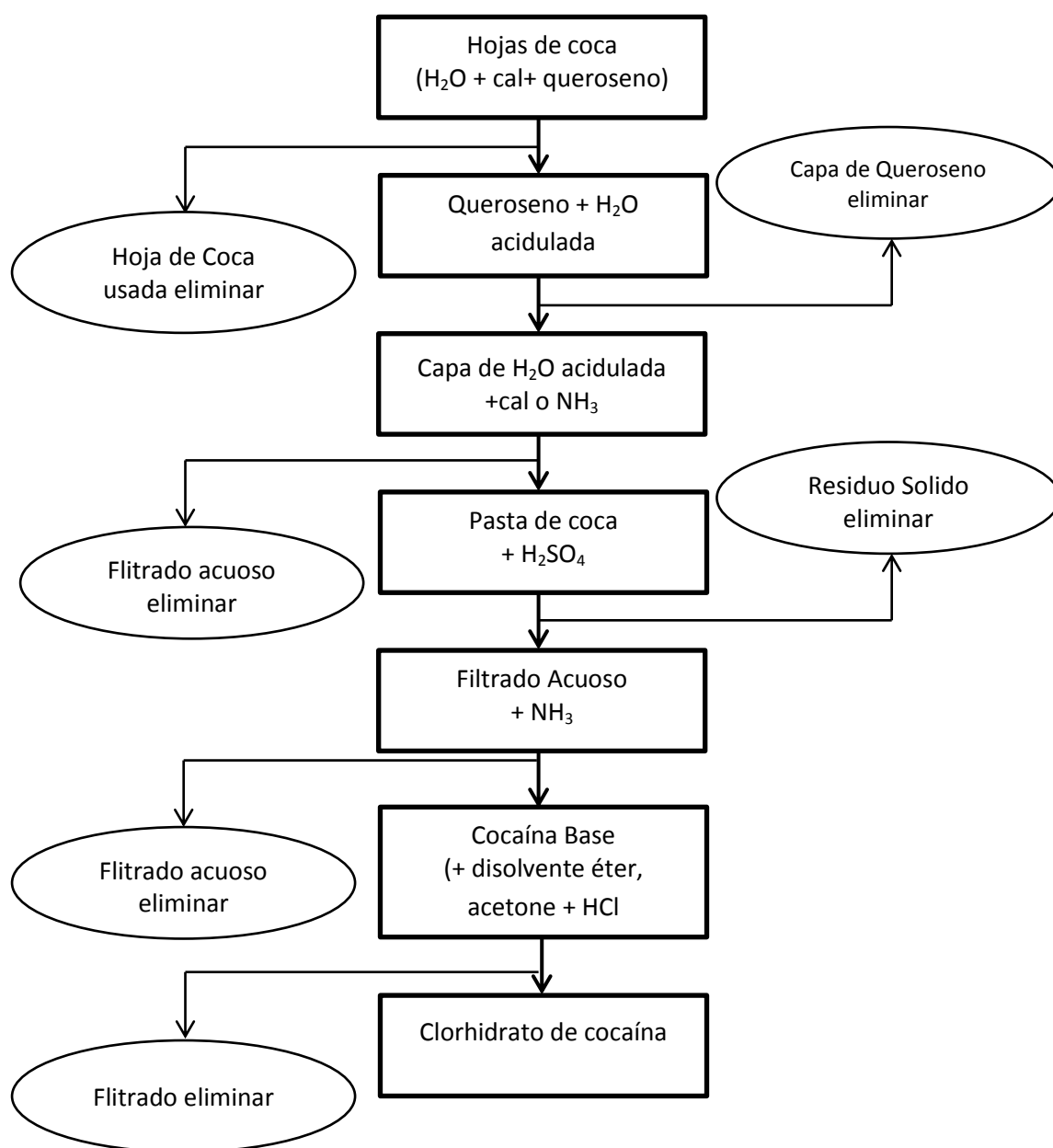


Figura No. 3. Diagrama de flujo en el que se muestra la producción ilícita de cocaína a partir de las hojas de coca

En la última parte del proceso, exactamente de la conversión de base de cocaína bruta en clorhidrato de cocaína, se disuelve en éter, a esta solución se la filtra y se le añade ácido clorhídrico y acetona, es así como se produce la precipitación de cocaína, esta se debe filtrar y secar. (UNODC. 1996)

TOXICIDAD

TOXICIDAD AGUDA

La cocaína no presenta un efecto sistémico notable al administrarse de manera local, he ahí la diferencia con la administración inhalatoria y/o la administración intravenosa (IV), estas diferentes administraciones presentan efectos perjudiciales en el organismo muy rápido. El efecto de toxicidad depende de cada persona y de otros factores, entre ellas la mezcla de drogas o su vía de administración. La administración IV rápida, produce efectos colaterales: convulsiones, arritmias cardíacas y el efecto se realiza de uno a dos minutos, mientras que en el momento de inhalar las mismas dosis, produce euforia. (DREISBACH R. et al. 2002)

Se presenta en tres etapas las alteraciones producidas por cocaína:

Etapas I. Estimulación inicial

De primera mano, la cocaína se presenta como un efecto anestésico local y/o, estimulante del Sistema Nervioso Central (SNC). La euforia que produce la administración de cocaína en los primeros tres minutos, se debe al bloqueo de la recaptación de dopamina, una de los síntomas de la etapa I es que el pulso aumenta, igual que la presión arterial. (DREISBACH R. et al. 2002)

Etapas II. Estimulación avanzada

Una vez que haya pasado la administración de cocaína, debe pasar aproximadamente unos treinta a sesenta minutos para hablar de la fase II, aquí la taquicardia aumenta, al igual que la presión arterial, y comienza a presentar más síntomas, como la dificultad al respirar e incluso convulsiones. (DREISBACH R. et al. 2002)

Etapa III. Depresión

Esta depende al consumo que se la haya realizado, la etapa de la depresión es la más severa, debe pasar aproximadamente una a dos horas para poder comenzar a ver síntomas más fuertes, como falla de la respiración, cianosis peribucal, disminución de funciones vitales, aquí es donde se presenta los suicidios. (DREISBACH R. et al. 2002)

Existen diferentes efectos por consumo de cocaína tales como:

- Efectos neuropsicológicos
- Efectos cardiovasculares
- Efectos neurológicos
- Efectos en otros sistemas (ojo, tracto urinario, pulmones)

TOXICIDAD CRÓNICA

Trata específicamente de los efectos psiquiátricos y efectos a largo plazo que produce el consumo, causando graves enfermedades como la pérdida de peso, insomnios y psicosis delirantes. La psicosis delirante es la más grave, en ella se presenta alucinaciones con pérdidas de memoria y lo más peligroso esquizofrenia. (DREISBACH R. et al. 2002)

Efectos cardiovasculares, estos son efectos a largo plazo, que se presenta por hipertensión arterial, concentraciones cardíacas de hipertrofia, espasmos coronarios en las arterias. (DREISBACH R. et al. 2002)

Los efectos respiratorios también entran en el grupo de largo plazo, produciendo alteraciones pulmonares relacionadas directamente con la bronquitis crónica. (DREISBACH R. et al. 2002)

1.5 CROMATOGRAFÍA

La cromatografía es un método sofisticado de la separación de mezclas de dos o más compuestos. En la separación se lleva a cabo la distribución de la mezcla entre dos fases: una estacionaria y una en movimiento. La cromatografía funciona en el principio por diferentes compuestos, tienen diferentes solubilidades y la adsorción a las dos fases en las que se van a dar las particiones. (SKOOG D. et al. 2000)

1.5.1 CROMATOGRAFÍA DE CAPA FINA

Cromatografía de capa fina (TLC) es una técnica de sólido - líquido en el que las dos fases son de un sólido (fase estacionaria) y un líquido (fase móvil). Los sólidos más utilizados en la cromatografía son de gel de sílice y alúmina. Ambos adsorbentes son polares, pero alúmina es más, la sílice también es más ácida. La alúmina está disponible en formas neutras, básicas o ácidas. La cromatografía de capa fina (TLC) es una técnica sensible, rápida, sencilla y barata en la forma analítica. (SKOOG D. et al. 2000)

Una de las ventajas de TLC que tiene sobre otros métodos de separación, es realmente una técnica de microescala. Sólo unos pocos microgramos de material en solución es necesario observar el soluto en una placa de TLC, al disolver unos pocos miligramos de material en un disolvente volátil crea una solución diluida, para lo cual se elige un disolvente volátil que disuelve completamente la muestra, si es parcialmente soluble, puesto que tal sólo se necesitan concentraciones bajas, normalmente se podrá observar el compuesto, una vez que se prepara la muestra. (SKOOG D. et al. 2000)

Cuando más fuerte es un componente dado de una mezcla está adsorbe la fase estacionaria en menos tiempo que gastará en la fase móvil, y la más lentamente que migrará hasta la placa. Los siguientes son algunos de los usos comunes de la cromatografía en capa fina: (SKOOG D. et al. 2000)

- Para determinar el número de componentes en una mezcla.
- Para determinar la identidad de dos sustancias.
- Para controlar el progreso de una reacción.
- Para determinar la eficacia de una purificación.
- Para supervisar cromatografía en columna.

FACTOR DE RETENCIÓN

Además de los resultados cualitativos, la TLC también puede proporcionar una medición cromatográfica conocido como un R_f valor. El R_f valor significa el “factor de

retención” expresado como una fracción decimal. (VALCÁRCEL, M. et al. 1998). El R_f valor se puede calcular como:

$$R_f = \frac{\text{distancia recorrida de la muestra}}{\text{distancia recorrida del solvente}} \quad \text{EC. 1}$$

Este número se puede calcular para cada punto observado en una placa de TLC. En esencia se describe la distancia recorrida por los componentes individuales. Si dos puntos viajar la misma distancia o tienen la misma R_f valor, entonces se podría concluir que los dos componentes son la misma molécula, sin embargo, las placas de TLC se deben ejecutar bajo la mismas condiciones. Estas condiciones incluyen la fase estacionaria, fase móvil, y la temperatura, sólo como muchas moléculas orgánicas tienen el mismo punto de fusión y color, muchos pueden tener el mismo R_f valor, por lo idéntico, R_f los valores no significa necesariamente compuestos idénticos. Adicional la información debe ser obtenida antes de que esta conclusión se pueda hacer. Es importante reiterar que este número sólo es significativo cuando se utilizan las mismas condiciones cromatografías. (VALCÁRCEL, M. et al. 1998)

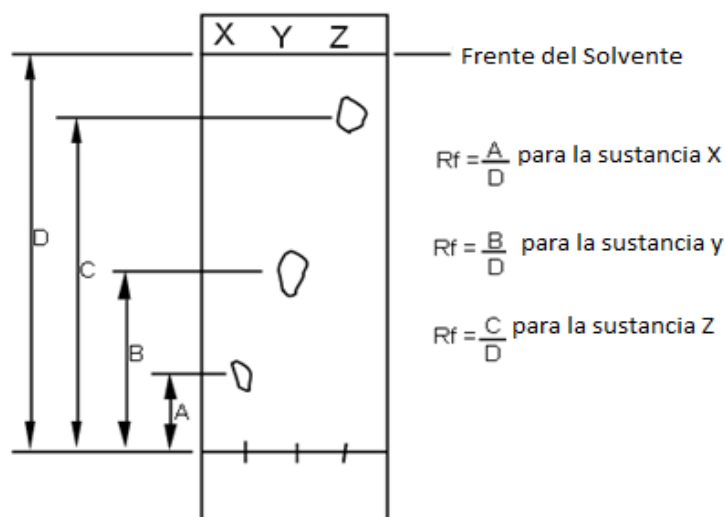


Figura No. 4. Diagrama de una placa típica de TLC

1.5.2 CROMATOGRAFÍA DE GASES

La cromatografía de gases es una técnica cromatográfica, la más adecuada que se ofrece para compuestos orgánicos volátiles, nos ofrece un mejor poder de resolución. (HARVEY A. et al. 2007)

En CG, la fase móvil es un gas, mientras la fase estacionaria puede ser:

- a) Un sólido adsorbente, o
- b) Un líquido retenido en un soporte sólido (CE) o impregnando las paredes de una columna capilar (CC), (CA).

Cabe distinguir por tanto dos tipos de generales de CG:

- Cromatografía gas- sólido (CGS) (cromatografía de absorción), y
- Cromatografía **gas- líquido (CGL) (cromatografía de partición).**

Como todo instrumento aún se tiene un pequeño problema el cual es encontrado por la labilidad térmica de los solutos, su temperatura debe ser constante para volatilizarse, la temperatura presenta un papel muy importante y decisivo en la separación de C.G. (SKOOG D. et al. 2000)

Para esta investigación utilizaremos la cromatografía gas-líquido, la muestra pasa por un sistema de inyección, en la cual la muestra es inyectada y se lleva a una cámara de evaporación. La fase móvil es el gas, es encargada de llevar la muestra a líquida. (SKOOG D. et al. 2000)

El cromatógrafo de gases, se basa principalmente en ensamblar varios módulos básicos con el objetivo de ayudar a:

- Que la fase móvil proporcione un gasto constante del gas transportador
- Que la señal sea legible proporcional en magnitud a la cantidad de cada componente
- Que la fase estacionaria contenga la longitud apropiada
- Que los componentes de la muestra sean detectados en función a la elución de la columna
- Que la columna mantenga un temperatura apropiada

- Permitir la introducción de la muestra y los vapores en la corriente de gas que fluya.

1.5.3. CROMATOGRAFÍA GAS-LÍQUIDO

Al pasar los años la cromatografía de gases ha logrado demostrar nuevos cambios. Desde los años 70 se han estado fabricando diferentes tipos de cromatógrafos, con su propio operador de datos controlados desde la computadora y con su sistema de integración electrónica. (SKOOG D. et al. 2000)

En los ochenta, también lograban fabricar instrumentos de alta resolución y lo mejor era que tenía un costo muy razonable. Pero en el transcurso del tiempo se comenzó a utilizar columnas tubulares abiertas y así se lograba separar componentes que correspondían a mezclas complejas en un determinado tiempo pero claramente demasiado corto. Así en la década de los 90 se dio un gran paso porque la cromatografía de gases utilizó un tubo capilar junto con métodos de alta velocidad. En la actualidad hay fábricas que hacen equipos con características impresionantes de alta calidad, alrededor de 130 modelos podemos encontrar, y estos oscilan entre unos 2000 a 40000 dólares, dependiendo del tipo de modelo que se encuentre en el mercado. (SKOOG D. et al. 2000)

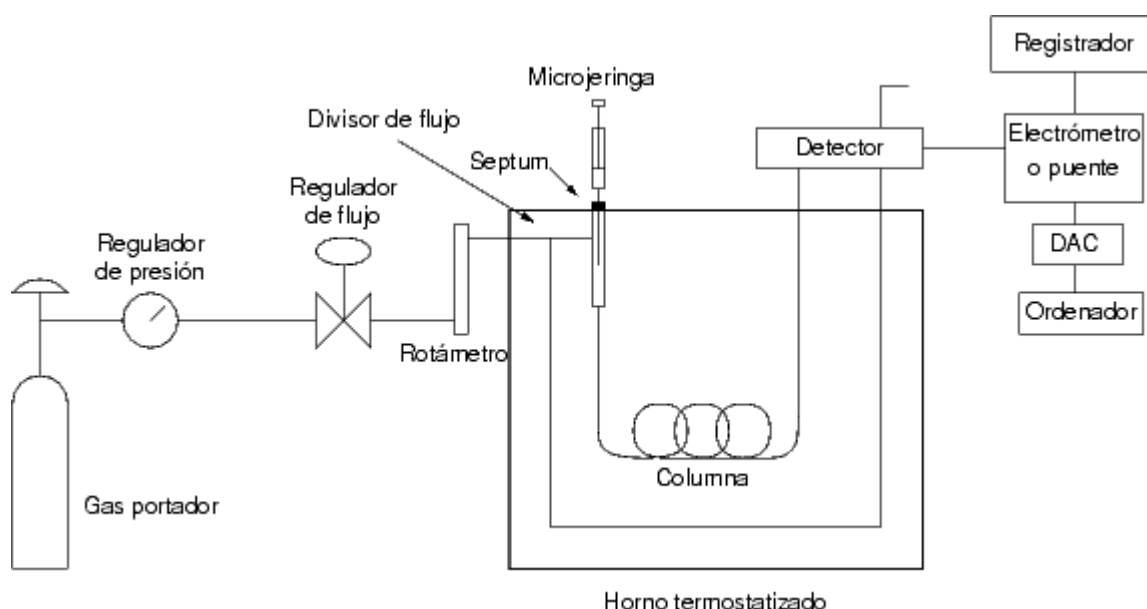


Figura No. 5. Esquema básico de un C.G.

Como se conoce, la cromatografía de gases fue desarrollada en 1980, hace varias décadas, se empleó sólo para identificar compuestos volátiles, que éstos al calentarse no se pudieran descomponer, pero en el transcurso de los años se ha extendido para que en el momento que polímeros se calienten produzcan monómeros volátiles. (BANQUERO D. 2006)

Las mezclas complejas de los hidrocarburos se las pueden determinar gracias a su buena resolución y su rapidez, drogas en la sangre, pesticidas, productos vegetales, sustancias tóxicas y solventes industriales. (BANQUERO D. 2006)

VENTAJAS DEL CROMATÓGRAFO DE GAS-LÍQUIDO

VOLATILIZACIÓN. La muestra directamente entra a volatilizarse y esta se inyecta directamente en la cabeza de la columna del cromatógrafo. Esta elución es producida por una fase móvil del gas empleado, por lo general es un gas inerte, esto es la característica principal de utilizar el CG, tanto esta fase móvil hace que no interactúe con las moléculas del analito, la única función es la de transportar su analito por medio de la columna empleada. (GERSON O. et al. 2012)

VELOCIDAD. Aproximadamente se necesitan de 10 minutos para poder obtener un resultado, debemos tomar en cuenta que la presión no se encuentre elevada, porque en cuestión de segundos puede aumentar repentinamente. Pero en varios laboratorios esta reducción de tiempo no está involucrada en; la toma de muestra, en el cálculo de los resultados obtenidos, ni tampoco en el análisis completo cromatográfico. (GERSON O. et al. 2012)

SENSIBILIDAD. Esta es una de las principales razones por la que se utiliza CG, se consigue una sensibilidad muy importante. Es poca la cantidad que se requiere para analizar las muestras, mediante el detector de conductividad térmica que puede medir fácilmente microgramos, los detectores selectivos y los detectores fotométricos ayudan a medir fácilmente picogramos, pero un detector de llama fácilmente hace que mida nanogramos. (GERSON O. et al. 2012)

SENCILLEZ. Las técnicas son sencillas y fáciles de entender, en varios días de trabajo con el equipo, se hace fácil obtener datos analíticos confiables, la instrumental del CG no es complejo pero sí se debe tener cuidado con el gas que se libera, estos son gases tóxicos y nocivos para la salud. (GERSON O. et al. 2012)

SISTEMA DE INYECCIÓN DE LA MUESTRA

MODO ESTÁNDAR

El modo estándar nos indica de una inyección directa por medio del septo de goma, al momento de inyectar la muestra debe ser rápida para evitar el ensanchamiento de las bandas de salida por el septum, en ese instante la muestra se evapora una vez que está dentro, se presenta una barrida de la columna por medio del bloque del metal a una temperatura ya establecida, esto hace que la muestra rápidamente se convierta de lo que ingresó líquida a vapor. (GERSON O. et al. 2012)

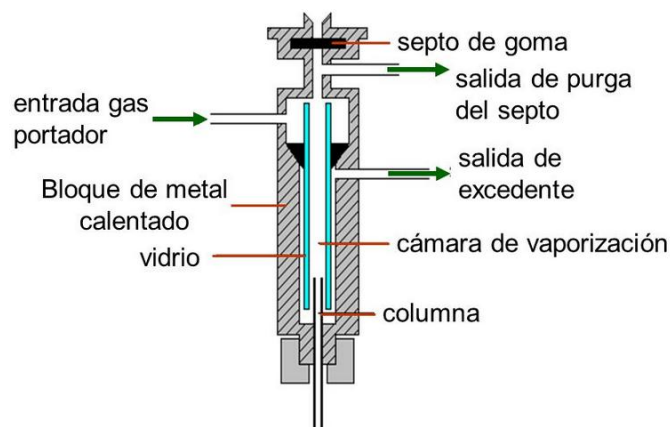


Figura No. 6. Inyector de muestra para un C. G. L.

Muestras complejas como las líquidas o gaseosas, también pueden ser aplicadas por medio de un bucle que estas determinadamente calibradas, introduciendo después la parte de la corriente del gas con el que fluye por medio de una válvula. (GERSON O. et al. 2012)

INYECCIÓN EN COLUMNAS CAPILARES

Al trabajar con columnas capilares debemos ver la reducción de volumen es necesaria. Se logra mediante un inyector divisor de inyección en Split, al momento de realizar

análisis de muestras en cantidades pequeñas con varios componentes de concentraciones milésimas, es necesario introducir una pequeña cantidad de muestra en la columna por lo que no se debe dejar saturar. (GERSON O. et al. 2012)

DESORCIÓN TÉRMICA Y PURGA Y TRAMPA

Diferentes constituyentes se puede purgar, por ejemplo los constituyente orgánicos volátiles sea de una muestra sólida o de una muestra líquida, por medio de un mismo gas como el He y atrapar en la trampa absorbente, éste forma una parte del sistema de inyección del cromatógrafo, ésta puede ser de carbón activado u otro adsorbente a temperatura ambiente. A las muestras gaseosas se les da otro tipo de tratamiento, a ellas se les atrapa en un tubo de vidrio externo al cromatógrafo, este relleno de absorbente y así se logra cambiar y circular mediante el bombeo el gas. (GERSON O. et al. 2012)

COLUMNAS

Para el Cromatógrafo de Gases, se utiliza dos tipos de columnas, una de ellas son la empaquetadas o también se les llama de relleno y las abiertas tubulares o también conocidas como capilares. Las columnas de relleno son las utilizadas en la CGL, estas columnas cromatográficas varían en su longitud, son construidas de acero inoxidable, sílice fundida o vidrio, con el único fin de poder introducir y que no afecte en el momento con el termostato, tiene una forma helicoides con diámetro de 10 a 30 cm y su longitud de 2 a 60 m. (GERSON O. et al. 2012)

DETECTORES

Existe diferentes detectores, en la actualidad hay un sin número de detectores y día a día se van desarrollando con mejor tecnología cada uno debe tener diferentes características:

- Una adecuada sensibilidad
- Buena estabilidad y reproducibilidad
- Intervalo de temperatura desde temperatura ambiente has por lo menos 400 °C
- Analítos que nos den una buena respuesta lineal

- Tiempos de respuesta cortos que sea de una forma alejada al caudal
- Alta fiabilidad

HORNOS O ESTUFAS

Las décimas de grado se deben regular precisamente de modo que la temperatura empleada en la columna sea variable, la columna es introducida en un horno termoztatizado. Cuando el punto de ebullición sea el adecuado significa que llega a su temperatura óptima la columna y al grado de separación que se requiere. (GERSON O. et al. 2012)

En la práctica es todo lo contrario, se necesita que la temperatura este igual o ligeramente superior al punto de ebullición de la muestra, esto es suficiente para tener tiempos de ebullición razonables. (GERSON O. et al. 2012)

El horno de la columna cromatográfica debe ser inmediatamente calentado y así mismo enfriado, la columna se enrolla pero está se sujeta a una canasta que está montada en el interior del horno. El sistema de flujo debe ser continuo y regular, en la mayoría de diseños el aire pasa por las resistencias que están sometidas a calentamiento y luego por deflectores que conforman la pared interior de dicho horno. (GERSON O. et al. 2012)

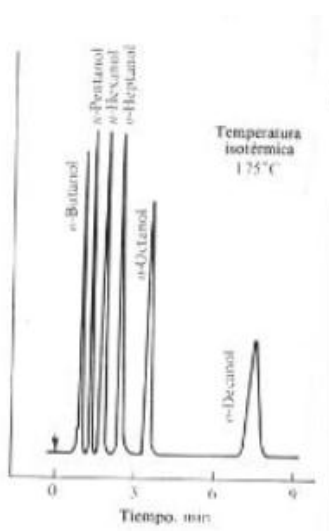


Figura No. 7. Efectos de temperatura sobre los cromatógrafos

1.5.4 CROMATÓGRAFO UTILIZADO EN LQFPCH

El Cromatógrafo que encontramos en el LQFPCH, es de fase gaseosa Modelo 8610C. Su característica principal es más compacto comparable con otros cromatógrafos en fase gaseosa.

“Es adecuadamente grande y flexible para lo cual se puede realizar diferentes variedades y aplicaciones, nos presenta hasta cuatro detectores, de un conjunto de 14, pueden ser montados en el chasis en forma simultánea, al igual presenta hasta cinco tipos de inyectores, de un conjunto de 15, pueden ser montados en el chasis en forma simultánea. El Modelo 8610C puede controlar hasta 16 zonas calefaccionadas, 3 válvulas de muestreo para gases y 7 controladores de presión electrónica EPC para controlar la presión de los gases. Virtualmente cualquier método puede ser implementado sobre el chasis Modelo 8610C, y posee un tamaño lo suficientemente pequeño como para poder trasladarlo a diferentes lados, el horno de columnas del Modelo 8610C es de temperatura programable en un rango que va de la temperatura ambiente hasta 400°C con ilimitado número de rampas y mesetas y un rápido enfriamiento. A pesar de su tamaño el horno puede alojar columnas megabore de un tamaño de diámetro de 7 pulgadas, o múltiple columnas con diámetro más pequeño. La presión de los gases, gases portadores, y gases para detectores, son controlados mediante controladores de presión electrónico (EPC) para una máxima precisión, y la presión del gas portador es programable. El sistema de Adquisición y Procesamiento de Datos Peak Simple ha sido diseñado para ser conectado fácilmente en un puerto serial de una computadora”

1.6 PARÁMETROS ANALÍTICOS A EVALUAR POR CGL

Características de analíticas que necesitan ser evaluadas y que típicamente corresponden a la siguiente lista:

EXACTITUD.- No indica la cercanía entre el valor que es aceptado, sea como un valor convencional verdadero (material de referencia interna, la muestra que se va a trabajar), sea como un valor de referencia aceptado (material de referencia certificado o

estándar) y el valor encontrado (valor promedio) obtenido al aplicar el procedimiento de análisis un cierto número de veces. (MARTINEZ M. 2003)

LINEALIDAD.- Habilidad (dentro de un ámbito dado) del procedimiento analítico de obtener resultados de prueba que sean directamente proporcionales a la concentración de analito en la muestra. (MARTINEZ M. 2003)

PRECISIÓN.- Expresa la cercanía de coincidencia (grado de dispersión) entre una serie de mediciones obtenidas de múltiples muestreos de una misma muestra homogénea bajo condiciones establecidas. Puede considerarse a tres niveles: repetitividad, precisión intermedia y reproducibilidad. Debe determinarse utilizando muestras originales y homogéneas. Sin embargo, si no es posible obtener una muestra homogénea puede ser determinada usando muestras preparadas o una disolución de la muestra. (MARTINEZ M. 2003)

REPETIBILIDAD.- Precisión obtenida bajo las mismas condiciones de operación en un intervalo corto de tiempo (mismo día), en la misma muestra homogénea y en el mismo equipo. (MARTINEZ M. 2003)

1.7 CUANTIFICACIÓN POR VARIAS MATRICES

Esta cuantificación exacta, se realiza en una cantidad de estándar interno conocido, la alícuota que contenga el mismo peso exacto y en diferentes concentraciones. El más adecuado estándar interno, es aquel analito que sea similar al del interés, pero que eluya en un espacio vacío determinado del cromatograma. (LÓPEZ E. 2007).

Las cantidades iguales y conocidas son añadiendo a concentraciones nominales diferentes con porcentajes de acorde, para que la medida de las áreas o picos de altura de la sustancia sea examinadas, los factores de respuesta, se basan en la respuesta vs la concentración, es así que al realizar varias concentraciones nominales (los porcentajes diferente) con sus respectivas repeticiones hablamos de las diferentes matrices que se han realizado. (LÓPEZ E. 2007)

1.8 DISEÑO EXPERIMENTAL

1.8.1 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Una vez obtenido los resultados, se realiza un análisis estadístico de conveniencia al diseño experimental que corresponda con el modelo asociado. El objetivo principal es cuantificar y valorar los diferentes factores de tratamiento y de su clasificación.

Para su evaluación se la puede hacer por, un análisis de varianza asociado bajo un modelo lineal, este análisis de varianza es una técnica estadística, que ayudan a examinar datos que correspondan a un experimento aleatorio comparativo, indicando que este proceso es un sistema que particiona la variabilidad total. (Monografía cocaína adicciones)

Tomamos en cuenta para el aspecto sobre el análisis de resultados, el investigador va a ser la única persona quien interprete los datos obtenidos, también varios resultados pueden ser significativos estadísticamente, pero carecen de análisis estadístico para la investigación. (Monografía cocaína adicciones)

A.- Ventajas del Diseño Experimental

Debe enfocarse la atención a las interrelaciones y a la estimación y cuantificación de fuentes de variabilidad en los resultados.

El número de pruebas requerido puede determinarse con certeza y a menudo puede reducirse.

La comparación de los efectos de los cambios es más precisa debido a la agrupación de resultados

B.- Desventajas del Diseño Experimental

Los diseños y sus análisis casi siempre vienen de la mano de enunciados complejos o en palabras técnico estadístico.

A los diseños estadísticos cuando fueron formulados se los critican, son muy caros, complicados y requieren de varias horas de trabajo.

1.8.2 PARÁMETROS A EVALUAR EN EL ANÁLISIS ESTADÍSTICO

LINEALIDAD

Una relación lineal se debe evaluar todo el procedimiento analítico. Puede demostrar directamente en la sustancia de fármaco (por dilución de una solución madre de patrón) y/o muestras de mezclas sintéticas de los componentes de productos de drogas, usando el procedimiento propuesto. (UNODC 2010)

La linealidad debe ser evaluada en función de la concentración de analito o contenido. Si hay una relación lineal, los resultados deben ser evaluados por métodos estadísticos apropiados, por ejemplo, mediante el cálculo de una línea de regresión por el método de los mínimos cuadrados. En algunos casos, para obtener linealidad entre ensayos y concentraciones de la muestra, los datos de prueba pueden tener que ser sometido a una transformación matemática antes del análisis de regresión. Los datos de la línea de regresión en sí pueden ser útiles para proporcionar estimaciones matemáticas del grado de linealidad. (UNODC 2010)

El coeficiente de correlación, intersección, la pendiente de la recta de regresión, y la suma de los cuadrados residual se debe presentar. Una representación gráfica de los datos deben ser incluidos. Además, un análisis de la desviación de los puntos de datos reales de la línea de regresión también puede ser útil para evaluar la linealidad. (UNODC 2010)

Algunos procedimientos analíticos, tales como inmuno ensayos, no demuestran linealidad después de cualquier transformación. En este caso, la respuesta analítica debería ser descrita por una función apropiada de la concentración (cantidad) de un analito en una muestra. (UNODC 2010)

PRECISIÓN

Validación de pruebas para el ensayo y para la determinación cuantitativa de las impurezas incluye una investigación de precisión. (DREISBACH R. et al. 2002)

Repetibilidad se evalúa utilizando, un mínimo de 9 determinaciones que cubren el rango especificado para el procedimiento (por ejemplo, concentraciones de 3 / 3 réplicas cada

uno); o un mínimo de 6 determinaciones en 100 por ciento de la concentración de ensayo. (UNODC 2010)

La desviación estándar, desviación estándar relativa (coeficiente de variación), y el intervalo de confianza deben ser reportados para cada tipo de precisión investigado. (UNODC 2010)

EXACTITUD

Exactitud debería evaluarse utilizando un mínimo de 9 determinaciones durante un mínimo de 3 niveles de concentración que cubren el rango especificado (por ejemplo, 3 concentraciones /3 repeticiones cada uno del procedimiento analítico total). (UNODC 2010)

Precisión debe ser reportado como el porcentaje de recuperación por el ensayo de cantidad, añadida conocida de analito en la muestra o como la diferencia entre la media y el valor verdadero aceptado (coeficiente de variación) junto con los intervalos de confianza. (UNODC 2010)

CAPÍTULO II

2. PARTE EXPERIMENTAL

2.1 LUGAR Y UBICACIÓN

La presente investigación se desarrolló en Departamento de Criminalística de la Policía Judicial de Chimborazo, en el laboratorio Química Forense, se ubica en el cantón Riobamba, parroquia Lizarzaburo, en las calles Sucumbíos y Cañar.

2.2 MATERIALES EQUIPOS Y REACTIVOS

MATERIALES:

- Gradilla
- Tubos de ensayo
- Vasos de precipitación de 250 y 500 mL
- Balones esmerilados de 250 y 1000 mL
- Papel filtro
- Reverbero
- Varilla de agitación
- Pipetas de 5 y 10 mL.
- Probetas 10, 100 y 500 mL
- Embudo
- Papel toalla absorbente
- Frascos ámbar de 25 y 50 mL
- Pinza universal
- Lámpara de alcohol
- Cuba cromatográfica
- Placa de sílica gel
- Pera de succión
- Gasas estériles

- Fundas de plástico

EQUIPOS

- ✓ Lámpara UV de alta eficacia, con filtros, en 3 versiones de longitud de onda (254, 365 nm) 254 nm: fluoroquímica, análisis de pesticidas, mineralogía, arqueología, toxicología, 365 nm: fluoroquímica, cultivos, TLC.
- ✓ Balanza analítica marca Ohaus, modelo PA3102, serie pioneer. 3100 x 0,01 capacidad: 3100 g precisión: 0,01 g
- ✓ Cromatografía de gases model 8610C chassis with 1 channel USB Peak Simple data system.
- ✓ Cámara fotográfica sony w200 12 MP
- ✓ Computadora de escritorio Marca acer modelo VM261-SD2180L procesador intel pentium dual core E2180 a 2.0GHz/1MB L2/800MHz FSB
- ✓ Refrigeradora
- ✓ Ultrasonido
- ✓ Vortex whirlimixer

REACTIVOS

A. Reactivos Puros:

- Alcohol potable 96%
- Ácido clorhídrico concentrado
- Metanol
- Hexano
- Acetona
- Dimetilamina
- Ciclohexano
- Tolueno
- Ácido acético de glacial (AAG)
- Ácido sulfúrico concentrado
- Amoniaco
- Glicerina

B. Reactivos Preparados:

- Reactivo de dragendorff
- Reactivo scott
- Yoduro de potasio
- Cloruro de cobalto
- Tiocianato de cobalto
- Ácido clorhídrico 0.1 N
- Hidróxido de sodio 10%

2.3 METODOLOGÍA

RECOLECCIÓN

Para realizar los análisis en el Laboratorio de Criminalística de la Policía Judicial de Chimborazo, se toma como una referencia los métodos por La Oficina de las Naciones Unidas contra la Droga y el Delito, denominado: Métodos Recomendados para la Identificación y Análisis de Cocaína en Materiales Incautados, es un manual para el uso de los Laboratorios Nacionales de Análisis de Estupefacientes, los mismos que son adaptados y validados en el laboratorio.

FASE DE LABORATORIO

Las muestras llegan bajo condiciones adecuadas por medio de la cadena de custodia, una vez que la muestra está en el laboratorio, se comienza a los análisis correspondientes, en primer lugar una prueba cualitativa, y las prueba cuantitativa correspondiente.

TRATAMIENTO AL INGRESAR LAS MUESTRAS

Las pruebas de comprobación que se realiza en el laboratorio, son fundamentalmente para la identificación de base de cocaína y clorhidrato de cocaína.

Una vez que la muestra o varias muestras llegan al laboratorio en su respectiva bolsa plástica, procedemos a sacarlas de la envoltura etiquetarlas y pesarlas, una por una, se realiza un análisis cualitativo de coloración con reactivo de Scott ya preparado (prueba de campo), y luego se procede a envolver para las siguientes pruebas si salieron positivas para presencia de cocaína. (GARCIA A. et al. 2005)

2.4. PRUEBAS CUALITATIVAS

2.4.1 DETERMINACIÓN ORGANOLÉPTICA

Base de Cocaína y Clorhidrato de Cocaína: Cristales incoloros o polvo blanco cristalino, sabor amargo, esponjoso e inodoro, anestésico, algo volátil.

2.4.2 SOLUBILIDAD

La observación se debe realizar a simple vista o con la ayuda de una lupa común, y así observamos solo la homogeneidad de la muestra que se está analizando.

- Base de Cocaína; es soluble en cloroformo y éter, ligeramente soluble en etanol e insoluble en agua
- Clorhidrato de Cocaína; es soluble en agua y etanol, ligeramente soluble en cloroformo y muy poco soluble en éter.

2.4.3 REACIONES DE COLORACIÓN. PRUEBA DE SCOTT

Existen varias pruebas preliminares que se deben realizar, se les llaman o tienen una nominación como pruebas de campo: scott, tiocianato, dragendorff entre otras. Pero estas pruebas no son pruebas específicas así que no constituyen como pruebas concluyentes. La prueba de scott nos orienta para poder determinar o tener una guía de la muestra con la que se está trabajando, o de que elemento pueda estar interfiriendo con la muestra. En esta investigación realizaremos solo la prueba de Scott, esta prueba determina si es positivo o no para la presencia de cocaína. (GARCIA A. et al. 2005)

Se procede de la siguiente forma, colocamos en el tubo de ensayo unos miligramos de la muestra a analizar, y la cantidad de 4 gotas de tiocianato de cobalto II, agitamos. La

aparición de un color azul está indicando la posibilidad de una presencia de cocaína. En el momento que se adiciona HCl concentrado y agitamos el color azul tiende a desaparecer e inmediatamente forma un color rosado, luego si adicionamos 1 ml de cloroformo y agitando nuevamente se aparece un color azul en la capa clorofórmica si la cocaína está presente. (GARCIA A. et al. 2005)

2.4.4 ENSAYOS DE MICROCRISTALOGRAFÍA

- a. En un porta objeto colocamos una cantidad mínima de la sustancia.
- b. Adicionamos 1 gota de HCl 1N,
- c. Adicionamos 1 gota de reactivo de Cloruro de Platino
- d. Cubrimos con el cubre objeto, para poder disminuir la evaporación

2.4.5 CROMATOGRAFÍA EN CAPA FINA

Preparación de la muestra: Disolver 0.1 g de muestra en 1 ml de metanol

Sistema cromatográfico; Fase Móvil:

Número 1: Hexano: Tolueno: Dietilamina (75:15:10)

Número 2: Cloroformo, Metanol (90:10)

Fase Estacionaria. Silica Gel

Patrones: Cocaína

Revelador. Dragendorff Spray

Las manchas presentes en la placa cromatográfica se pueden observar bajo luz ultra violeta, antes del revelado. Haciendo el uso de la ecuación No. 1. se puede calcular el factor de retención.

2.5 PRUEBAS CUANTITATIVAS

2.5.1 CARACTERISTICAS DE OPERACIÓN DEL C.G.L

HORNO	
Temperatura de la columna	60 °C al inicio durante tres minutos, inyectamos e incrementamos a 300 °C
Ritmo	40 °C/min
Periodo isotérmico final	6 min
COLUMNA	
Columna de alta resolución HP-5MS, de 30m de longitud, 0,25mm de diámetro y 0,25 µm de recubrimiento	
DETECTOR	
Modo de ionización	Modo EI, 70 eV;
Temperatura de línea de transferencia	300 °C
Temperatura de la fuente de iones	270 °C

2.6 PREPARACIÓN DE LAS SOLUCIONES PARA LINEALIDAD, EXACTITUD. PRECISIÓN (ESTÁNDAR Y MUESTRA).

2.6.1 SOLUCIÓN PATRÓN (ESTÁNDAR)

Se toma 10 µL de clorhidrato de cocaína, llevo a un balón aforado de 10 mL y aforo con metanol grado cromatográfico. Se reconstituye si se evapora. (LIZCANO C. et al. 2001)

2.6.2 PREPARACIÓN DEL PATRÓN INTERNO (MUESTRA)

Se toma 10 µL de la muestra, llevo a un balón aforado de 10 mL y aforo con metanol grado cromatográfico. Se reconstituye si se evapora. (LIZCANO C. et al. 2001)

2.6.3 PREPARACIÓN DE LA CURVA DE CALIBRACIÓN (ESTÁNDAR Y MUESTRA)

Para la elaboración de los diferentes calibradores y controles negativos se sumaron en viales con sus determinados insertos, los volúmenes que se detalla a continuación:

- LA LINEALIDAD

Para evaluar la linealidad se tuvo que preparar una curva de calibración la misma que trata de 6 puntos en un rango comprendido entre una concentración de 5 a 30 $\mu\text{g/mL}$ lo que pertenece del 25% al 150%, de la concentración estimada en las muestras a cuantificar. (LIZCANO C. et al. 2001)

Nombre	Concentración nominal ($\mu\text{g/mL}$)	Volumen necesarios para completar 100 μL (*)		
		Solución Patrón	Metanol GC	Solución Muestra
BLANCO	Blanco Solvente	100
Calibrador 1	05	20	70	10
Calibrador 2	10	20	60	20
Calibrador 3	15	20	50	30
Calibrador 4	20	20	40	40
Calibrador 5	25	20	30	50
Calibrador 6	30	20	20	60

* 1 $\mu\text{g/mL}$ = 0.001g/mL

- EXACTITUD

Para poder determinar la exactitud en las muestras vamos a preparar por duplicado las soluciones con las que vamos a trabajar y determinamos concentraciones en baja, media y alta. 10, 20 y 30 $\mu\text{g/mL}$, respetivamente.

Nombre	Concentración nominal ($\mu\text{g/mL}$)	Volumen necesarios para completar 100 μL (*)		
		Solución Patrón	Metanol GC	Solución Muestra
BLANCO	Blanco Solvente	100
Calibrador 1	10	20	70	10
Calibrador 2	10	20	60	20
Calibrador 3	20	20	50	30
Calibrador 4	20	20	40	40
Calibrador 5	30	20	30	50
Calibrador 6	30	20	20	60

* 1 $\mu\text{g/mL}$ = 0.001g/mL

- PRECISIÓN

Vamos a preparar 6 soluciones de trabajo que nos va a representar a un 100% de la concentración que estamos determinando en las muestras de cocaína, en los análisis a identificar:

Nombre	Concentración nominal (µg/mL)	Volumen necesarios para completar 100 µL (*)		
		Solución Patrón	Metanol GC	Solución Muestra
Estándar 1	20	20	40	40
Estándar 2	20	20	40	40
Estándar 3	20	20	40	40
Estándar 4	20	20	40	40
Estándar 5	20	20	40	40
Estándar 6	20	20	40	40

* 1 µg/mL = 0.001g/mL

Al agregar la totalidad de los volúmenes se procedió a sellarlos con para film para así poder evitar la evaporación. Y se comenzó a inyectar al equipo cada concentración.

2.7 DISEÑO EXPERIMENTAL DE LA INVESTIGACIÓN Y ANÁLISIS ESTADÍSTICO

2.7.1 LINEALIDAD

Se procedió a construir una curva de calibración utilizando 6 puntos que oscilan entre 25% al 150% de la concentración esperada. La verificación de la linealidad del gráfico de calibración se realizó mediante una regresión lineal con la que determinamos a cual nos generó una ecuación de la forma $y = a + bx$ donde b corresponde a la pendiente y a al intercepto en el eje y respectivamente. (GARZÓN W. 2009)

La linealidad la evaluamos con los criterios de aceptación que podemos detallar en el siguiente cuadro a continuación: (GARZÓN W. 2009)

PARÁMETRO ESTADÍSTICO	Criterio
r = Coeficiente de correlación	0.96-1.00
r ² = Coeficiente de determinación	≥0.98
CV _f = Coeficiente de variación del factor respuesta	< 5.0%
Valor p de regresión	< 0.05
Valor F calculado en el análisis de varianza	F _{calculado} > F _{crítico}

2.7.2 EXACTITUD

A la exactitud la evaluamos a través del análisis de soluciones estas se las realiza en tres niveles de concentración (25%, 50% y 100%).

Una prueba de estadística T de Student se la debe realizar permitiendo la ayuda a la del porcentaje correspondiente recuperación global y se efectuó. Los criterios de aceptación, bajo los cuales se evaluó la exactitud son detalladas de la manera siguiente:

PARÁMETRO ESTADÍSTICO	CRITERIO DE ACEPTACIÓN
Promedio aritmético	(95-105)%
Intervalo de confianza (nivel de confianza)	95%
Test t-Student ($\alpha=0,05$; gl= 34)	t tabulada > t calculada
Valor p para este test	> 0.05
Coeficiente de variación entre replicas	< 2.0

Prueba de hipótesis:

Utilizando los valores concernientes al porcentaje de recuperación en los distintos niveles de concentración se pudo comprobar la siguiente hipótesis:

H₀: $\mu=100\%$

H_i: $\mu= 100\%$

Si no hay diferencia significativa en el porcentaje de recuperación encontrado con el esperado (100%) se espera no rechazar H_0 (Hipótesis nula). (GARZÓN W. 2009)

2.7.3 REPETIBILIDAD.

Para ello procedimos a evaluar seis soluciones patrón de clorhidrato de cocaína con una concentración determinada de 20 µg/mL, esto nos determina (100% de la concentración que esperamos), estas son las preparadas como estándares de referencia de cocaína. (GARZÓN W. 2009)

Se calculamos el promedio, desviación estándar y coeficiente de variación (CV%) global para cada metodología. Los criterios de aceptación bajo los cuales se evaluó la precisión se detallan en el siguiente cuadro:

PARÁMETRO ESTADÍSTICO	Criterio de aceptación
Coeficiente de variación entre replicas (%)	< 2.0 %
Coeficiente de variación global (%)	< 2.0 %

Para evaluar los parámetros analíticos se toma como referencia las directrices para la validación de métodos analíticos de la UNODC 2010.

CAPÍTULO III

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La muestra analizada fue recibida en el mes de julio del 2013, el día jueves 18 bajo la cadena de custodia, con un peso total de 50g, y fue etiquetada como: Análisis 0.79 I.F. No. 1801018130330124.

Generalmente, la cocaína se comercializa como base de cocaína o como clorhidrato de cocaína. Para las pruebas se tomó como estándar la base de cocaína (P), que se relaciona con los de la muestra de análisis (M).

Después de realizar las pruebas correspondientes y sus respectivos análisis se ha obtenido los siguientes resultados.

3.1 ENSAYOS CUALITATIVOS

3.1.1 ANÁLISIS ORGANOLÉPTICO

CUADRO No. 1. RESULTADOS ORGANOLÉPTICO

PARÁMETRO	ESTÁNDAR	MUESTRA
COLOR	Blanco hueso	Blanco
OLOR	Característico	Característico
ASPECTO	Granuloso fino	Granuloso

Las características organolépticas de nuestro estándar y la muestra son muy similares, expresados en la Cuadro No. 1, nos indican el olor característico para los dos, no en cambio el color para la base de cocaína es de blanco hueso, con un aspecto granuloso fino, y para el clorhidrato de cocaína su color es blanco de aspecto granuloso.

3.1.2 ANÁLISIS DE LA SOLUBILIDAD

CUADRO No. 2. DETERMINACIÓN DE LA SOLUBILIDAD

MUESTRA	AGUA	CLOROFORMO	ÉTER	ETANOL
BASE COCAÍNA	+	+++	+++	++
MUESTRA	+++	++	+	+++

+++: Soluble

++: Ligeramente Soluble

+: Insoluble

En la determinación de las constantes físicas para la base de cocaína y la muestra, las solubilidades se determinan en tres aspectos, soluble, ligeramente soluble e insoluble, siendo la base de cocaína (solución estándar) soluble en cloroformo y éter, ligeramente soluble en etanol, e insoluble en agua, la base de cocaína al ser procesado con amoníaco o bicarbonato de sodio se calienta para eliminar el ácido clorhídrico y lo vuelve insoluble en agua y soluble en éter. La muestra es soluble en agua y etanol, ligeramente soluble en cloroformo y muy poco soluble en éter, el clorhidrato de cocaína (muestra) al ser una mezcla forma puentes de hidrogeno esto hace que sea más soluble en agua e insoluble en éter, tomamos en cuenta que el etanol y cloroformo son soluble o ligeramente solubles en las dos muestras, se las puede utilizar comparando entre las muestras.

3.1.3 MICROCRISTALOGRAFÍA Y PRUEBA DE ENSAYO

CUADRO No. 3. DETERMINACIÓN DE MICROCRISTALOGRAFÍA Y PRUEBA DE SCOTT

PARÁMETRO	BASE DE COCAÍNA	MUESTRA
Microcristalografía	positivo	positivo
Prueba de Scott	positivo	positivo

Para la micro cristalografía tanto como para la base de cocaína y el clorhidrato de cocaína se presenta un forma de agujas finas, presentando ramificaciones

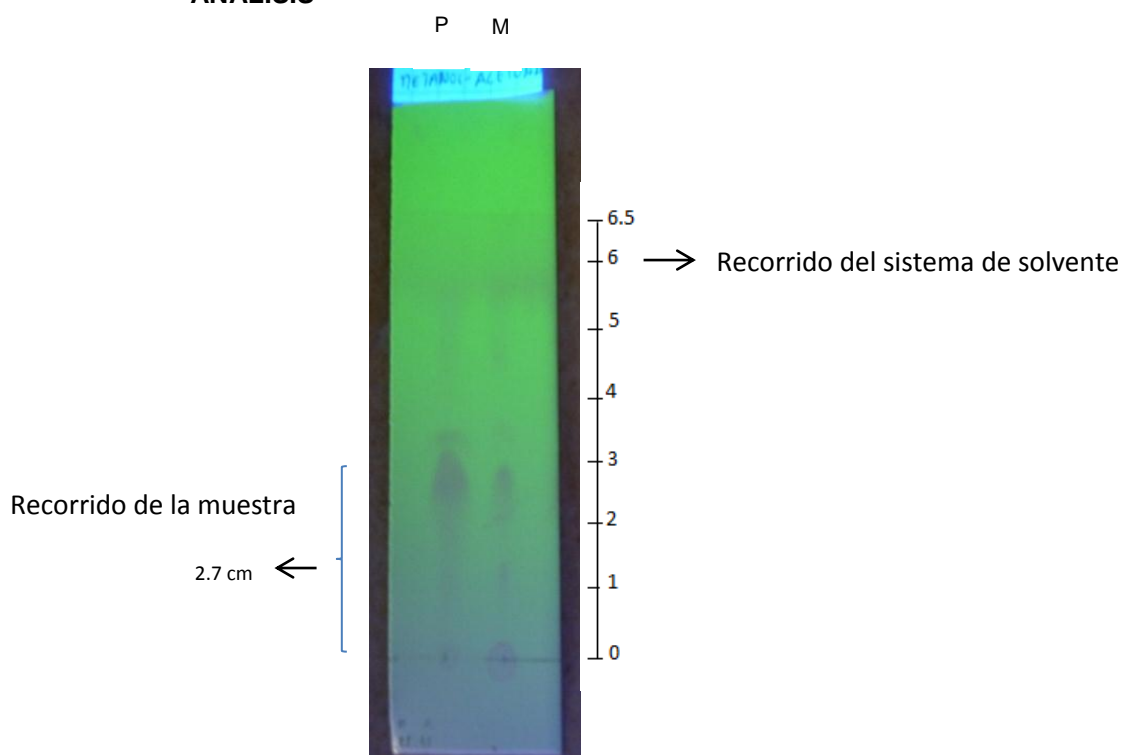
perpendiculares a sus agujas, se ve en con lente de 100x. La prueba de Scott presentó el cambio de color (azul) para lo cual se da positivo a cocaína.

3.1.4 CROMATOGRAFÍA EN CAPA FINA

3.1.4.1 TLC SOLVENTES HEXANO: TOLUENO: DIETILAMINA

La cromatografía de capa fina, TLC, realizada con un sistema de solventes: hexano, tolueno, dietilamina, del estándar, P, como de la muestra de análisis, M, utilizando el revelador dragendorff y luz U.V., al tener el mismo recorrido como se indica en la fotografía No. 1, esto confirma la presencia de cocaína en la muestra. Utilizando la ecuación No. 1 y los datos obtenidos de la placa reveladora los R_f son iguales, como se reportan en el cuadro No. 4.

FOTOGRAFÍA No. 1. PLACA CROMATOGRÁFICA TLC DEL ESTÁNDAR Y MUESTRA EN ANÁLISIS



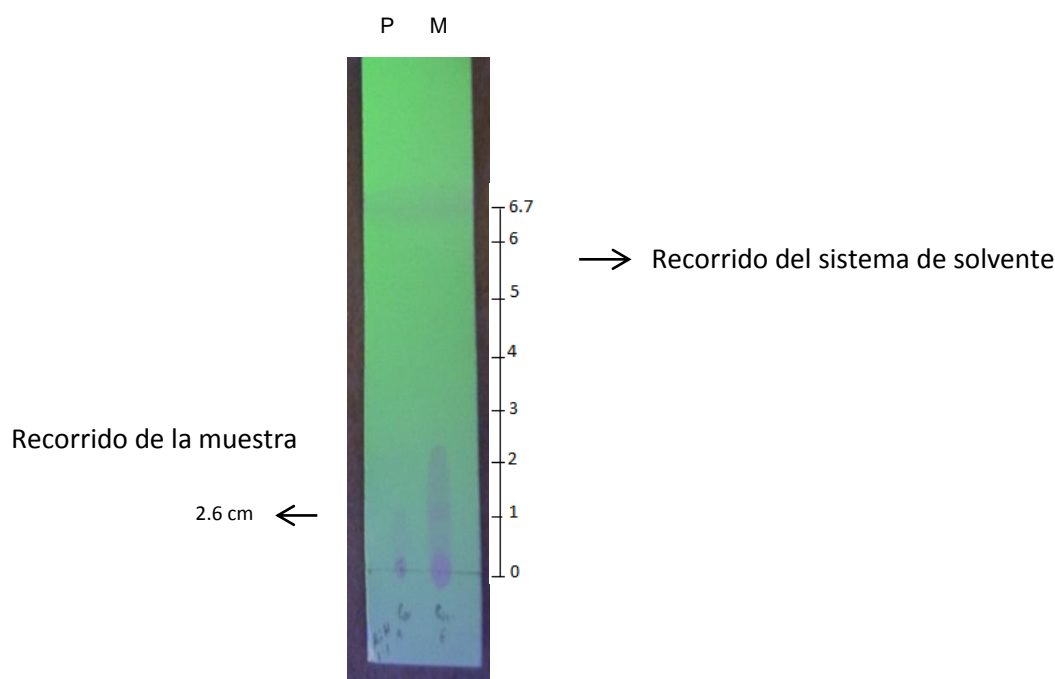
CUADRO No. 4. RESULTADOS DE TLC PARA EL ESTÁNDAR BASE DE COCAÍNA (P), Y LA MUESTRA CLORHIDRATO DE COCAÍNA (M)

Banda	R_f	Compuesto identificado	Muestras
1	0,41	Cocaína	Patrón (P) -----
2	0,41	Cocaína	Muestra (M) ———

3.2.4.2 TLC SOLVENTES CLOROFORMO Y METANOL

La cromatografía de capa fina, TLC, realizada con un sistema de solventes: cloroformo, metano, del estándar, P, como de la muestra de análisis, M, utilizando el revelador dragendorff y luz U.V., al haber igual recorrido como se indica en la fotografía No. 2. Esto confirma la presencia de cocaína en la muestra. Utilizamos la ecuación No. 1 y los datos obtenidos de la placa reveladora los R_f lo explicamos en el cuadro No. 5.

FOTOGRAFÍA No. 2. PLACA CROMATOGRÁFICA TLC DEL ESTÁNDAR Y MUESTRA EN ANÁLISIS.



CUADRO No. 5. RESULTADOS DE TLC PARA EL ESTÁNDAR BASE DE COCAÍNA (P), Y LA MUESTRA CLORHIDRATO DE COCAÍNA (M)

Banda	R_f	Compuesto identificado	Muestras
1	0,39	Cocaína	Patrón (P) -----
2	0,39	Cocaína	Muestra (M) ———

3.2 ENSAYOS CUANTITATIVOS

DETERMINACIÓN POR CROMATOGRAFÍA DE GASES

3.2.1 DETERMINACIÓN DE LA LINEALIDAD POR CROMATOGRAFÍA DE GASES

A.- Análisis de los resultados a diferentes concentraciones

Los resultados obtenidos por la Cromatografía de gases cuando se inyecta 5 µg/mL que representa el 25% de la concentración nominal, son expresados en el cuadro No. 6.

CUADRO No. 6. ANÁLISIS OBTENIDOS POR EL CROMATÓGRAFO DE GASES PARA LA DROGA COCAÍNA 25%

RÉPLICA	CONCENTRACIÓN NOMINAL (µg/mL)	ESTÁNDAR COCAÍNA/ CLORHIDRATO DE COCAÍNA		FACTORES DE RESPUESTA
		CONCENTRACIÓN (x)	RESPUESTA (y)	
1	4,95	0,25	0,2376878	0,9507512
2	4,95	0,25	0,2343768	0,9375072
3	4,95	0,25	0,2387287	0,9549148

Con estos datos se realiza una regresión lineal del factor de respuesta Vs. la respuesta, el promedio concentración de la muestra (x) igual a 0,25 y en respuesta (y) igual 0,2369311, que son valores muy similares, indicándonos que la solución patrón esta próxima al de la muestra, como se observa en la gráfica No. 1.

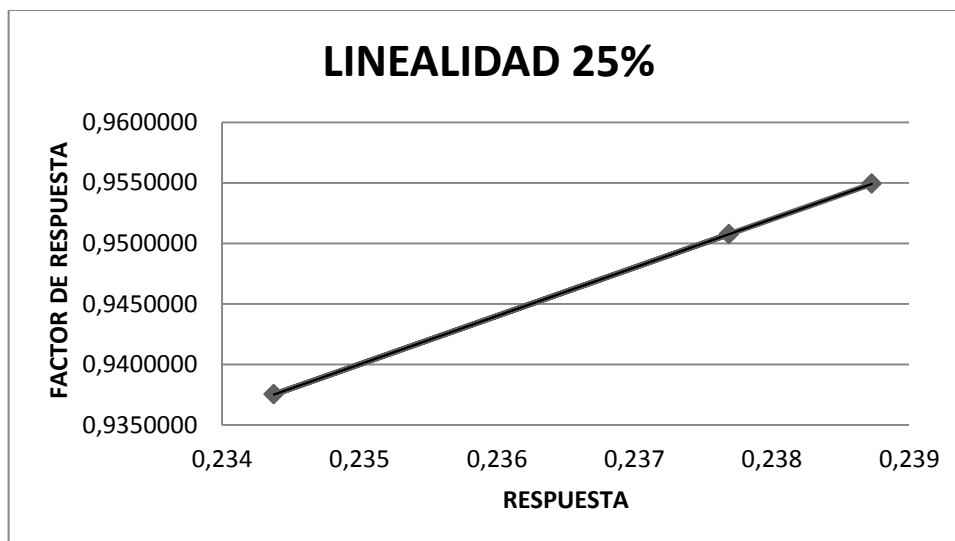


GRÁFICO No. 1. REGRESIÓN LINEAL (RELACIÓN RESPUESTA COCAÍNA Vs. FACTOR DE RESPUESTA AL 25%)

B.- Análisis de los resultados a diferentes concentraciones

Los resultados obtenidos por la Cromatografía de gases cuando se inyecta 10 µg/mL que representa el 50% de la concentración nominal, son expresados en el cuadro No. 7.

CUADRO No. 7. ANÁLISIS OBTENIDOS POR EL CROMATÓGRAFO DE GASES PARA LA DROGA COCAÍNA 50%

RÉPLICA	CONCENTRACIÓN NOMINAL (µg/mL)	ESTÁNDAR COCAÍNA/ CLORHIDRATO DE COCAÍNA		FACTORES DE RESPUESTA
		CONCENTRACIÓN (x)	RESPUESTA (y)	
1	9,90	0,50	0,4854980	0,9709960
2	9,90	0,50	0,4883760	0,9767520
3	9,90	0,50	0,4810330	0,9620660

Con estos datos se realiza una regresión lineal del factor de respuesta Vs. la respuesta, el promedio concentración de la muestra (x) igual a 0,50 y en respuesta (y) igual 0,4849690, que son valores muy similares, indicándonos que la solución patrón esta próxima al de la muestra, como se observa en la gráfica No. 2.

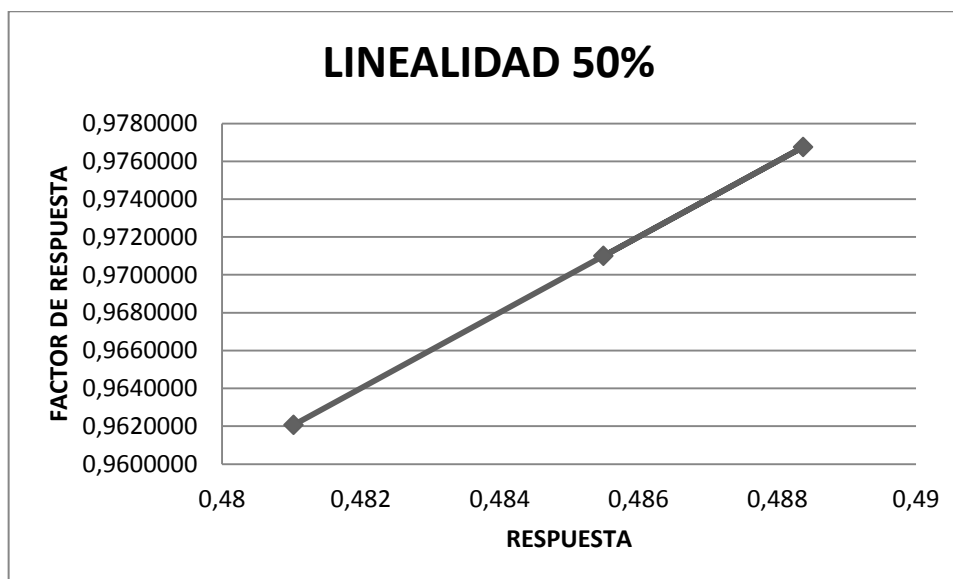


GRÁFICO No. 2. REGRESIÓN LINEAL (RELACIÓN RESPUESTA COCAÍNA VS. FACTOR DE RESPUESTA AL 50%)

C.- Análisis de los resultados a diferentes concentraciones

Los resultados obtenidos por la cromatografía de gases cuando se inyecta 15 µg/mL que representa el 75% de la concentración nominal, son expresados en el cuadro No. 8.

CUADRO No. 8. ANÁLISIS OBTENIDOS POR EL CROMATÓGRAFO DE GASES PARA LA DROGA COCAÍNA 75%

RÉPLICA	CONCENTRACIÓN NOMINAL (µg/mL)	ESTÁNDAR COCAÍNA/ CLORHIDRATO DE COCAÍNA		FACTORES DE RESPUESTA
		CONCENTRACIÓN (x)	RESPUESTA (y)	
1	14,85	0,75	0,7274990	0,9699987
2	14,85	0,75	0,7234509	0,9646012
3	14,85	0,75	0,7221935	0,9629247

Con estos datos se realiza una regresión lineal del factor de respuesta Vs. la respuesta, el promedio concentración de la muestra (x) igual a 0,75 y en respuesta (y) igual 0,7243811, que son valores muy similares, indicándonos que la solución patrón esta próxima al de la muestra, como se observa en la gráfica No. 3.

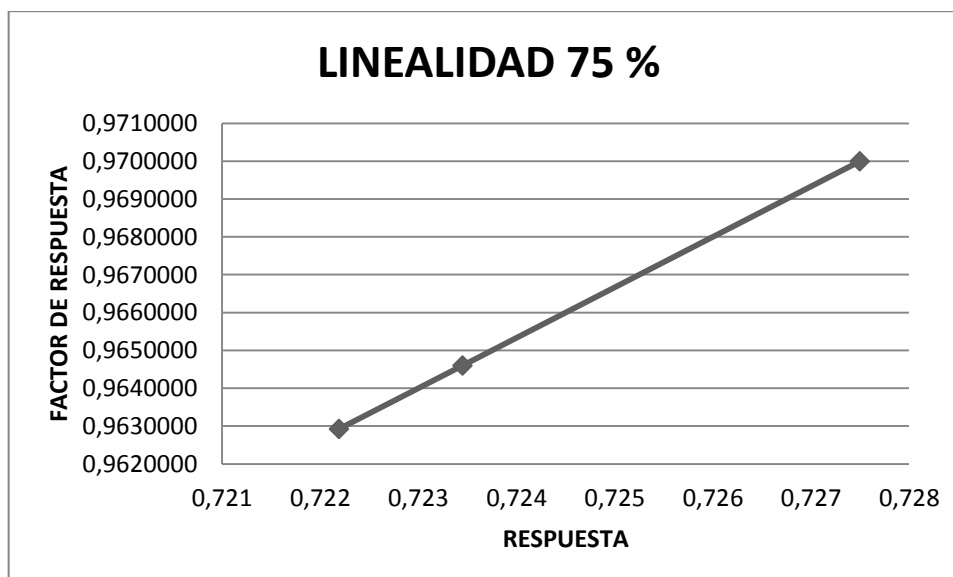


GRÁFICO No. 3. REGRESIÓN LINEAL (RELACIÓN RESPUESTA COCAÍNA Vs. FACTOR DE RESPUESTA AL 75%)

D.- Análisis de los resultados a diferentes concentraciones

Los resultados obtenidos por la Cromatografía de gases cuando se inyecta 20 µg/mL que representa el 100% de la concentración nominal, son expresados en el cuadro No. 9.

CUADRO No. 9. ANÁLISIS OBTENIDOS POR EL CROMATÓGRAFO DE GASES PARA LA DROGA COCAÍNA 100%

RÉPLICA	CONCENTRACIÓN NOMINAL (µg/mL)	ESTÁNDAR COCAÍNA/ CLORHIDRATO DE COCAÍNA		FACTORES DE RESPUESTA
		CONCENTRACIÓN (x)	RESPUESTA (y)	
1	19,80	1,00	0,9654675	0,9654675
2	19,80	1,00	0,9659756	0,9659756
3	19,80	1,00	0,9627569	0,9627569

Con estos datos se realiza una regresión lineal del factor de respuesta Vs. la respuesta, el promedio concentración de la muestra (x) igual a 1,00 y en respuesta (y) igual 0,9647333, que son valores muy similares, indicándonos que la solución patrón esta próxima al de la muestra, como se observa en la gráfica No. 4.

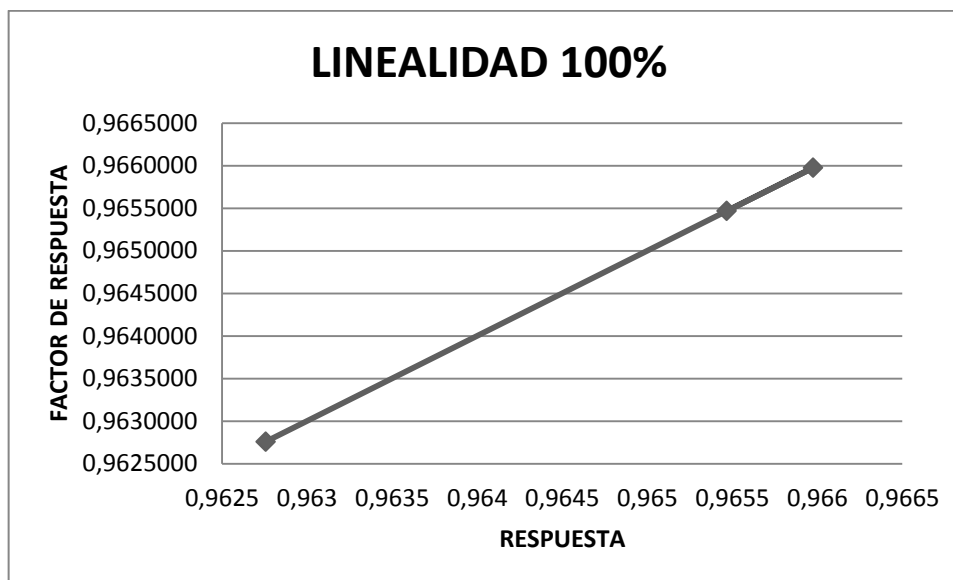


GRÁFICO No. 4. REGRESIÓN LINEAL (RELACION RESPUESTA COCAÍNA Vs. FACTOR DE RESPUESTA AL 100%)

E.- Análisis de los resultados a diferentes concentraciones

Los resultados obtenidos por la Cromatografía de gases cuando se inyecta 25 µg/mL que representa el 125% de la concentración nominal, son expresados en el cuadro No. 10.

CUADRO No. 10. ANÁLISIS OBTENIDOS POR EL CROMATÓGRAFO DE GASES PARA LA DROGA COCAÍNA 125%

RÉPLICA	CONCENTRACIÓN NOMINAL (µg/mL)	ESTÁNDAR COCAÍNA/ CLORHIDRATO DE COCAÍNA		FACTORES DE RESPUESTA
		CONCENTRACIÓN (x)	RESPUESTA (y)	
1	24,75	1,25	1,2465789	0,9972631
2	24,75	1,25	1,2454781	0,9963825
3	24,75	1,25	1,2441238	0,9952990

Con estos datos se realiza una regresión lineal del factor de respuesta Vs. la respuesta, el promedio concentración de la muestra (x) igual a 1,25 y en respuesta (y) igual 1,2453936, que son valores muy similares, indicándonos que la solución patrón esta próxima al de la muestra, como se observa en la gráfica No. 5.

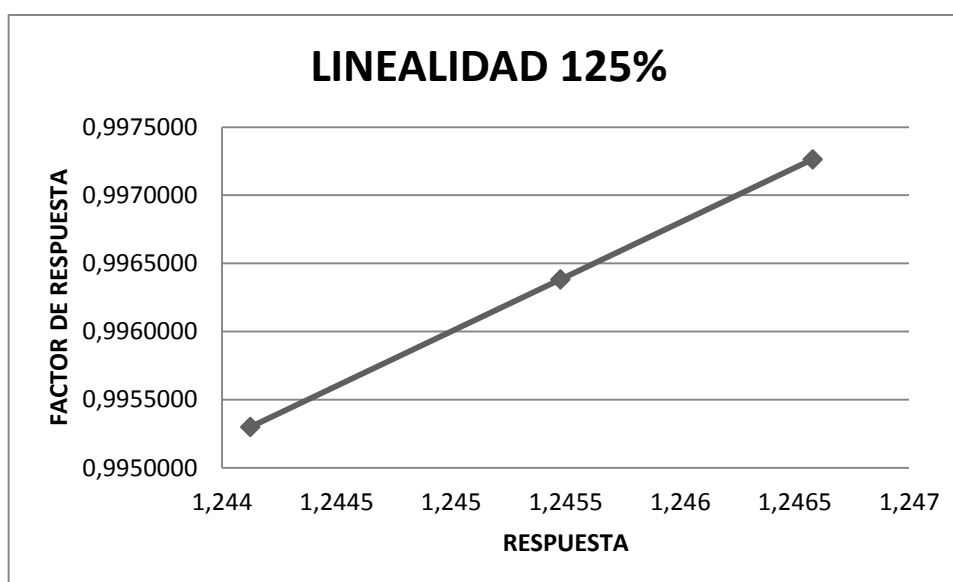


GRÁFICO No. 5. REGRESIÓN LINEAL (RELACIÓN RESPUESTA COCAÍNA Vs. FACTOR DE RESPUESTA AL 125%)

F.- Análisis de los resultados a diferentes concentraciones

Los resultados obtenidos por la Cromatografía de gases cuando se inyecta 30 µg/mL que representa el 150% de la concentración nominal, son expresados en el cuadro No. 11.

CUADRO No. 11. ANÁLISIS OBTENIDOS POR EL CROMATÓGRAFO DE GASES PARA LA DROGA COCAÍNA 150%

RÉPLICA	CONCENTRACIÓN NOMINAL (µg/mL)	ESTÁNDAR COCAÍNA/ CLORHIDRATO DE COCAÍNA		FACTORES DE RESPUESTA
		CONCENTRACIÓN (x)	RESPUESTA (y)	
1	29,70	1,50	1,4876234	0,9917489
2	29,70	1,50	1,4843560	0,9895707
3	29,70	1,50	1,4868304	0,9912203

Con estos datos se realiza una regresión lineal del factor de respuesta Vs. la respuesta, el promedio concentración de la muestra (x) igual a 1,50 y en respuesta (y) igual 1,4862699, que son valores muy similares, indicándonos que la solución patrón esta próxima al de la muestra, como se observa en la gráfica No. 6.

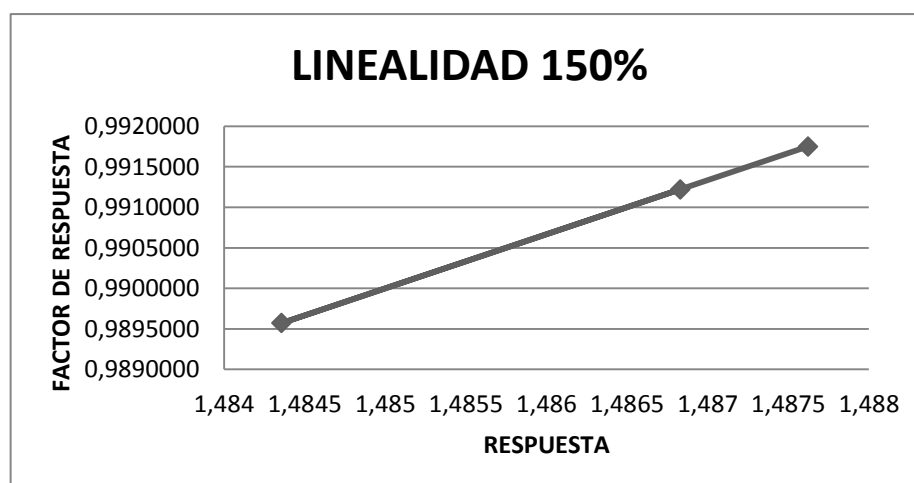


GRÁFICO No. 6. REGRESIÓN LINEAL (RELACIÓN RESPUESTA COCAÍNA Vs. FACTOR DE RESPUESTA AL 150%)

3.2.1.1 Cuadro resumen de los resultados a diferentes concentraciones.

Los resultados obtenidos por el Cromatógrafo de gases al inyectar 5µg/mL a 30µg/mL, representando del 25% al 150% de la concentración nominal, son expresados en el cuadro No. 12.

CUADRO No. 12. RESULTADOS OBTENIDOS PARA LA EVALUACIÓN DE LA LINEALIDAD POR EL MÉTODO DE CROMATOGRAFÍA DE GASES.

CONCENTRACIÓN NOMINAL (µg/ml)	CONCENTRACIÓN ESTÁNDAR (x)	RESPUESTA MUESTRA (y)	FACTORES DE RESPUESTA
4,95	0,25	0,2376878	0,9507512
4,95	0,25	0,2343768	0,9375072
4,95	0,25	0,2387287	0,9549148
9,90	0,50	0,4854980	0,9709960
9,90	0,50	0,4883760	0,9767520
9,90	0,50	0,4810330	0,9620660
14,85	0,75	0,7274990	0,9699987
14,85	0,75	0,7234509	0,9646012
14,85	0,75	0,7221935	0,9629247
19,80	1,00	0,9654675	0,9654675
19,80	1,00	0,9659756	0,9659756
19,80	1,00	0,9627569	0,9627569
24,75	1,25	1,2465789	0,9972631
24,75	1,25	1,2454781	0,9963825
24,75	1,25	1,2441238	0,9952990
29,70	1,50	1,4876234	0,9917489
29,70	1,50	1,4843560	0,9895707
29,70	1,50	1,4868304	0,9912203

Con estos datos se realiza una curva de calibración de la concentración Vs. la respuesta, el análisis de la linealidad nos indica que el método realizado es capaz de explicar la respuesta entre relación base de cocaína (patrón)/clorhidrato de cocaína (muestra), llevado a un cuadro reportan valores muy aproximados, como son observa en la gráfica No. 7.

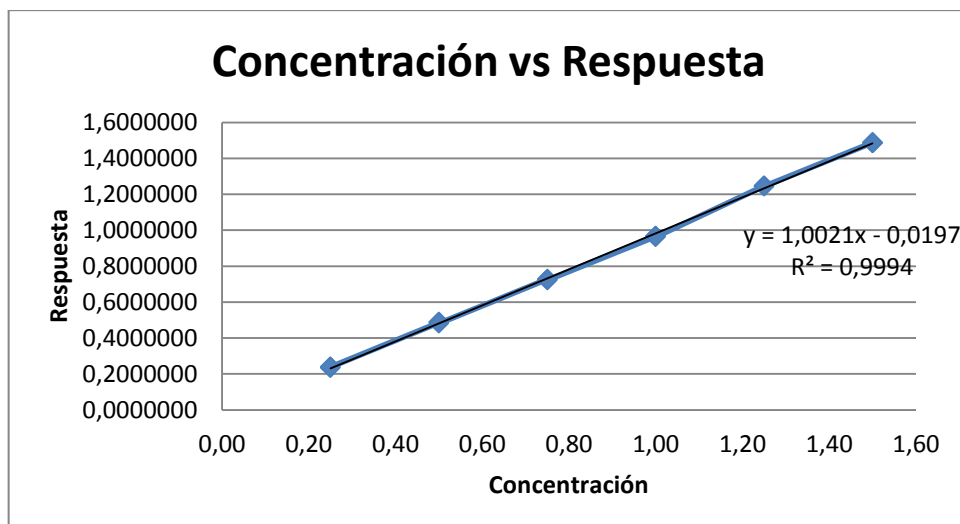


GRÁFICO No. 7. CURVA DE CALIBRACIÓN (ESTÁNDAR Vs. MUESTRA PARA LA LINEALIDAD)

El coeficiente de correlación lineal está dentro del criterio de aceptación que va entre 0.96 – 1.00, obteniendo como resultado 0.9725665, así mismo para el coeficiente de determinación de la regresión lineal, fue 0,9994 esta debe ser > 0.98 cumpliendo con los niveles de aceptación, nos muestra que corresponde entre la respuesta analítica del método y la concentración se ajusta al modelo lineal. Aplicando el coeficiente de variación en la prueba de linealidad, se obtuvo un valor de 4,3% que es menor al 5.0%, establecido como límite para la linealidad, nos demuestra la adecuada linealidad del método por Cromatografía de Gases, en las diferentes concentraciones realizadas, como se muestra en el cuadro No. 13.

CUADRO No. 13. ANÁLISIS ESTADÍSTICO PARA LA LINEALIDAD DEL MÉTODO DE CROMATOGRAFÍA DE GASES.

Parámetro estadístico evaluado	Criterio de aceptación	Resultado	Cumple	
			Acepta	Rechaza
Coeficiente de correlación de la regresión lineal	0.96-1.00	0,9725665	x	
Coeficiente de determinación de la regresión lineal	> 0.98	0,9994	x	
Valor p en el análisis de regresión	< 0.05	0,003325	x	
Coeficiente de variación (CV)	$< 5.0 \%$	4.3 %	x	

3.2.2 EVALUACIÓN DE LA EXACTITUD POR CROMATOGRAFÍA DE GASES

Los resultados obtenidos por el Cromatógrafo de gases cuando se inyecta 10, 20 y 30 µl/mL de concentración nominal son expresados en el cuadro No. 14.

CUADRO No. 14. RESULTADOS OBTENIDOS PARA LA EVALUACIÓN DE LA EXACTITUD POR EL MÉTODO DE CROMATOGRAFÍA DE GASES

REPLICA	CONCENTRACION NOMINAL	CONCENTRACION RECUPERADA	PORCENTAGE DE RECUPERACION	PROMEDIO ARITMÉTICO	
1	9,90	9,88	99,80	X=	99,39
2	9,90	9,78	98,79		
3	9,90	9,85	99,49		
4	9,90	9,85	99,49	SD=	0,46068
5	9,90	9,89	99,90		
6	9,90	9,79	98,89	CV=	0,005
1	9,90	9,77	98,69	X=	97,78
2	9,90	9,58	96,77		
3	9,90	9,89	99,90		
4	9,90	9,78	98,79	SD=	1,78648
5	9,90	9,67	97,68		
6	9,90	9,39	94,85	CV=	0,018
1	19,80	19,76	99,80	X=	99,18
2	19,80	19,45	98,23		
3	19,80	19,77	99,85		
4	19,80	19,65	99,24	SD=	0,80961
5	19,80	19,43	98,13		
6	19,80	19,77	99,85	CV=	0,008
1	19,80	19,73	99,65	X=	98,77
2	19,80	19,54	98,69		
3	19,80	19,53	98,64		
4	19,80	19,45	98,23	SD=	0,83029
5	19,80	19,33	97,63		
6	19,80	19,76	99,80	CV=	0,008
1	29,70	29,43	99,09	X=	99,19
2	29,70	29,55	99,49		
3	29,70	29,44	99,12		
4	29,70	29,67	99,90	SD=	0,83729
5	29,70	29,00	97,64		
6	29,70	29,67	99,90	CV=	0,008
1	29,70	29,65	99,83	X=	98,98
2	29,70	29,17	98,22		
3	29,70	29,01	97,68		
4	29,70	29,55	99,49	SD=	0,88889
5	29,70	29,64	99,80		
6	29,70	29,37	98,89	CV=	0,009

Para la evaluación de la exactitud, obtuvimos un promedio aritmético de 98.88%, este valor está dentro del rango de aceptación de 95 a 100 %, del análisis realizado. Así igualmente de acuerdo al intervalo de confianza, se ha construido a través de la distribución t de Student su nivel de significancia de $\alpha=0.05$, como resultado se obtuvo -6,16 que se encuentra dentro del intervalo de aceptación y cumple con el criterio establecido. No se rechaza la $H_0: \mu=100\%$ y se concluye que el método por cromatografía de gases al cuantificar cocaína es exacto.

CUADRO No. 15. PARÁMETROS ESTADÍSTICOS EVALUADOS PARA EL ANÁLISIS DE LA EXACTITUD POR EL MÉTODO DE CROMATOGRFÍA DE GASES

Parámetro estadístico evaluado	Criterio de aceptación	Resultado	Cumple	
			Acepta	Rechaza
Promedio Aritmético del porcentaje de recobro	(95.0-100.5)%	98.88%	x	
Intervalo de confianza	Incluye el 100.0%	99.63 –100,36	x	
Test de Student ($\alpha=0.05$; $gl=35$)	< 2.03	-6,16218	x	
Coeficiente de variación entre replicas (CV)	< 2.0%	1.8	x	

3.2.3 EVALUACIÓN DE LA PRECISIÓN POR CROMATOGRAFÍA DE GASES

Los resultados obtenidos por el Cromatógrafo de gases cuando al inyectar 20 µl/mL representando el 100% de concentración nominal en 6 réplicas son expuestos en el cuadro No. 16.

CUADRO No. 16. RESULTADOS OBTENIDOS PARA LA EVALUACIÓN DE LA REPETIBILIDAD POR EL MÉTODO DE CROMATOGRAFÍA DE GASES EN LA PRECISIÓN.

Réplicas	REPETIBILIDAD					
	1	2	3	4	5	6
1	38,45	39,01	38,31	38,55	38,43	38,53
2	38,98	38,56	38,38	38,49	38,48	38,55
3	38,87	39,11	38,51	38,56	38,53	38,56
4	38,65	38,91	38,39	39,61	38,51	38,55
5	38,76	38,83	38,36	38,49	38,47	38,49
6	39,85	38,01	38,41	38,53	38,42	38,71
7	38,76	38,67	38,32	38,57	38,43	38,41
8	38,88	39,76	38,39	38,46	38,88	38,67
9	39,05	39,11	39,50	38,52	39,45	38,76
10	38,55	38,61	38,33	38,55	38,49	38,59
Promedio	38,8800	38,8580	38,4900	38,6330	38,6090	38,5820
Recuperación media	38,6753					
sd	0,388	0,456	0,359	0,345	0,324	0,105
Coefficiente de variación	0,0100	0,0117	0,0093	0,0089	0,0084	0,0027
Coefficiente de variación global	1.28%					

El coeficiente de variación para los estándares de repetibilidad fue en todos los casos menos al 2.0%, así mismo el coeficiente de variación global nos dio como resultado de 1,28%, indicándonos que está dentro del parámetro de aceptación que es menor al 2%. Por lo que se comprueba que el método de cromatografía de gases en la cuantificación de cocaína, presenta repetibilidad, tomando en cuenta que no existe ninguna diferencia en las condiciones de trabajo, como se observa en el cuadro No. 17.

CUADRO No. 17. PARÁMETROS ESTADÍSTICOS EVALUADOS PARA EL ANÁLISIS DE LA PRECISIÓN POR EL MÉTODO DE CROMATOGRAFÍA DE GASES.

Parámetro estadístico evaluado	Criterio de aceptación	Resultado	Cumple	
			Acepta	Rechaza
Coeficiente de variación entre réplicas (%)	<2.0%	<2.0%	x	
Coeficiente de variación global (%)	<2.0%	1,28 %	x	

CONCLUSIONES

1. La presencia de cocaína en una muestra de análisis realizado por el método de cromatografía de gases, si presentan linealidad, exactitud y repetibilidad que son conocidos como parámetros analíticos.
2. El parámetro analítico de linealidad, se demostró que existe una relación de proporcionalidad de concentración en los rangos de 5,10 y 15 $\mu\text{g/mL}$ (estándar Vs. Respuesta) con un coeficiente de correlación lineal de 0.9725665, valor que está dentro del coeficiente de correlación de la regresión lineal. (Cuadro No. 13.)
3. El parámetro analítico exactitud, nos indica que no existe ninguna diferencia reveladora entre el 100% de la recuperación esperada y el promedio de porcentaje de recuperación nos dio como resultado 98.88%, valor que se encuentra dentro del parámetro estadístico evaluado de porcentaje de recobro. (Cuadro No. 15.)
4. El parámetro analítico precisión, se demostró por su repetibilidad a concentraciones de 20 $\mu\text{g/mL}$ que el coeficiente de variación global es de 1.28% que no es menor al 2.0%, valor que se encuentra dentro del parámetro estadístico evaluado. (Cuadro No. 16.)

RECOMENDACIONES

1. Implementar y validar el método de cuantificación de cocaína por cromatografía de gases en el Laboratorio de Química Forense de la Policía Judicial de Chimborazo.
2. Realizar comparaciones de la cuantificación de cocaína con métodos analíticos en otras sustancias controladas.

BIBLIOGRAFÍA

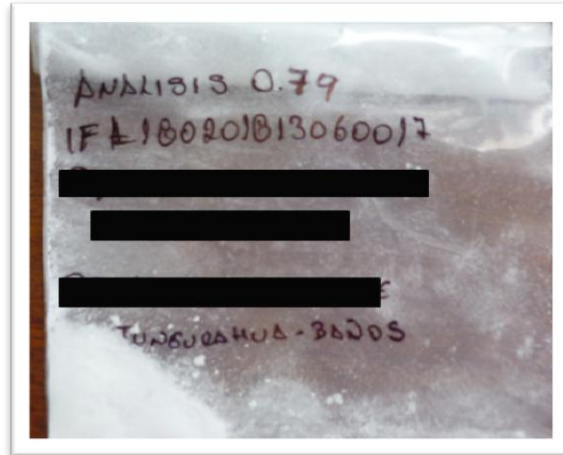
- **AMAYA, Vicente.** La Cocaína: Historia. Formas De Prevención En El Ámbito Escolar. Química. Forma de Actuación en el Cerebro Investigación de las Terapias Actuales. Madrid-España, Moll. 2010, pp. 8-10
- **BANQUERO, Mirian.** Principios y aplicaciones de la cromatografía de gases. 2da.ed. San José - Costa Rica, Stonewall. 2006, pp. 8
- **BLOCH, Roberto.** Análisis antropológico del uso de la Hoja de Coca en Sudamérica Argentina. Coyocán – México, Arlequín. 2002, pp. 4
- **CANTOS, Iván.** EVALUACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE DEOXINIVALENOL (DON) POR CROMATOGRFÍA LÍQUIDA DE ALTA RESOLUCIÓN EN UNA POBLACIÓN DE LÍNEAS MEJORADAS DE TRIGO. (*triticum aestivum*). (tesis) (Bioq. Farm). Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Facultad de Ciencias. Bioquímica y Farmacia. Riobamba-Ecuador. 2013, pp 34.
- **CURTIS, D.** et al. Manuel de toxicología, la ciencia Básica de los tóxicos. 5ta.ed; México. pp. 45-47, 60-63. 1999
- **DESCRIPCIÓN BOTÁNICA DE LA COCAÍNA.** 2010.
<http://www.slideshare.net/erikyoni/la-hoja-de-coca>
14-04-2014
- **DREISBACH, R.** et al. Manual de toxicología clínica de Dreisbasch: prevención, Diagnóstico y tratamiento. 13era. Ed; México D.F., 2002, pp. 83
- **GARCIA, A.** et al. Manual de estudios de cocaína y droga de síntesis. Madrid-España, Onada. 2005, pp. 348

- **GARZÓN, Willan.** Análisis forense de muestra de cocaína producidas en Colombia: Perfil cromatográfico de muestras de clorhidrato de cocaína. Bogotá-Colombia, Rey Naranjo. 2009, pp. 13.
- **GERSON, Oswaldo.** et al. VALIDACIÓN DEL MÉTODO PARA EL ANÁLISIS DE COCAÍN, OPIÁCEDOS Y SUS PRINCIPALES ADULTERACIONES POR CROMATOGRAFÍA DE GASES. ACOPLADA A ESPECTOFOTOMETRÍA. (Tesis) (Químico). Universidad Tecnológica de Pereira. Facultad de Química, Escuela Química. Pereira – Colombia. 2012, pp 35 y 40.
- **HARVEY, A.** et al. Medicina nuclear. 7ma. Ed. Madrid-España, Trama. 2007, pp. 11
- **DESCRIPCIÓN DE LA TAXONOMÍA**
<http://www.hondurassilvestre.com/search/taxa/taxa.aspx?tsn=506807>
 11-05-2014
- **HURTADO, Alberto.** Drogas, Metadona y Sigmund Freud. España. pp. 4. Agosto 2009.
- **La cocaína.** Benzoilmetilecgonina
<http://es.wikipedia.org/wiki/Coca%C3%ADna>
 11-04-2014
- **ENTEÓGENOS Y PSICOACTIVOS**
<https://lisergia.org/temas/cultivo-de-coca-en-interior.304/>
 23-05-2014
- **MARTINEZ. Mónica,** Validación de una metodología analítica para la determinación de cocaína y sus metabolitos en muestras de saliva por cromatografía gaseosa. Bogotá - Colombia, No. 1, Vol. 32. pp. 13, Mayo 2003.

- **MONOGRAFÍA COCAÍNA.** Adicciones 2001 volumen 13 suplemento 2.
<http://www.pnsd.msc.es/Categoria2/publica/pdf/cocaina.pdf>
18-05-2014
- **PASCUAL, F.** et al. Manual de cocaína adicciones. 13era. ed. España-Madrid. 2001, pp. 10-11.
- **RIOFRIO, Rosa.** Consumo de drogas en los jóvenes de la ciudad de Guayaquil. (Revista Latino Americana de En fermagem). Pp. 8-12, Mayo 2010.
- **SKOOG, D.** et al. Fundamentos a la Química Analítica. 7ma. Ed. México D.F.-México, Mc Graw Hill. 2000, pp. 688.
- **UNODC.** Métodos recomendados para la identificación y el análisis de cocaína en materiales incautados. Devida, Perú-Lima. abril 2013, pp. 8-9.
- **VALCÁRCEL, M.** et al. Técnicas Analíticas de separación. España.-Madrid, Crow. 1998, pp. 615-616.

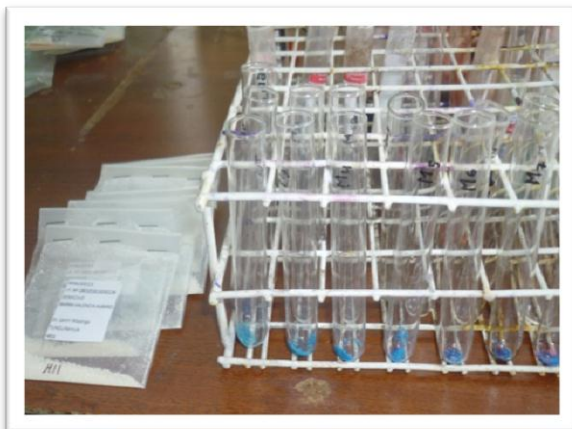
ANEXOS

ANEXO No 1. RECEPCIÓN DE LAS MUESTRAS DE COCAÍNA.



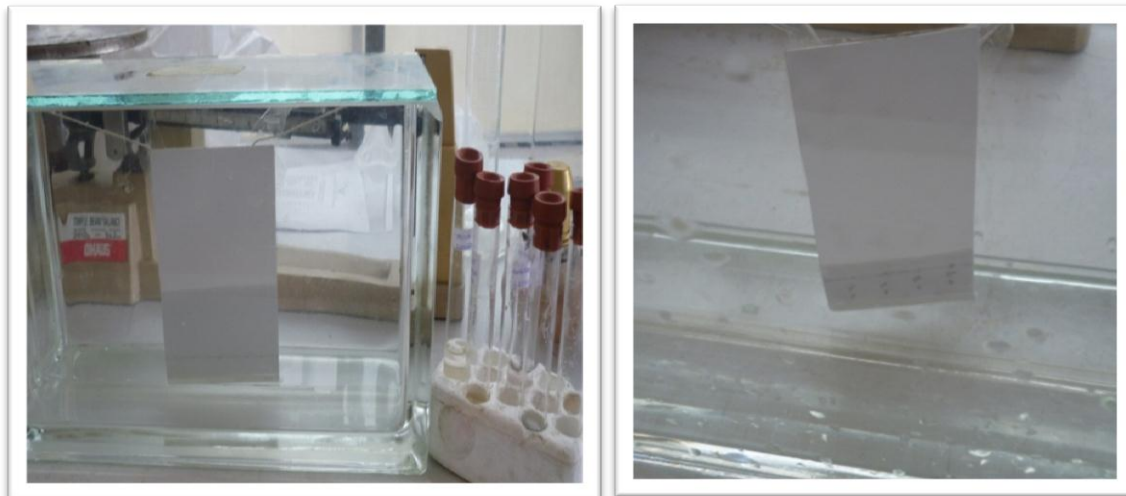
FOTOGRAFÍA No. 12. MUESTRAS DE COCAÍNA PARA LA CUANTIFICACIÓN POR CROMATOGRAFÍA DE GASES.

ANEXO No 2. PRUEBA CUALITATIVA PARA LA CUANTIFICACIÓN DE COCAÍNA.

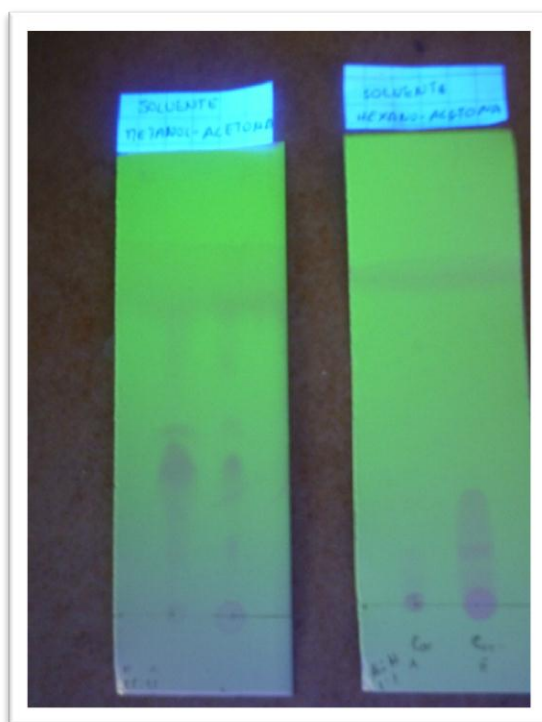


FOTOGRAFÍA No. 4. CAMBIO DE COLOR EN LA PRUEBA DE SCOTT. LABORATORIO DE QUÍMICA FORENSE DE LA POLICÍA JUDICIAL DE CHIMBORAZO JULIO 2013

ANEXO No 3. PROCESO PARA LA IDENTIFICACIÓN DE COCAÍNA POR CROMATOGRAFÍA EN CAPA FINA

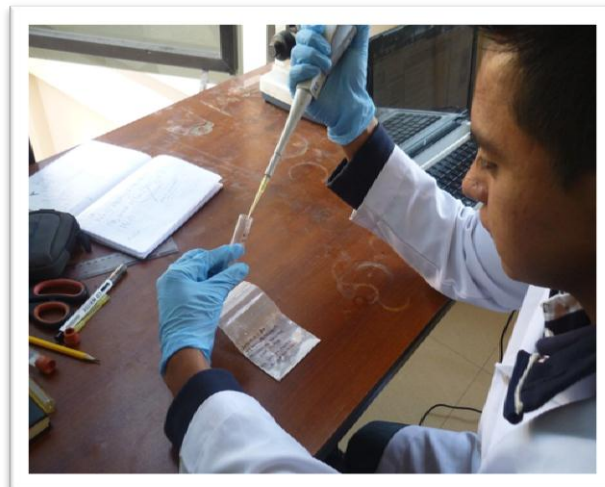


FOTOGRAFÍA No. 5. PLACA CROMATOGRÁFICA PARA LA IDENTIFICACIÓN DE COCAÍNA.



FOTOGRAFÍA No. 6. RESULTADOS DE LA IDENTIFICACIÓN DE COCAÍNA POR TLC, SE OBSERVÓ POR MEDIO DE LUZ U.V.

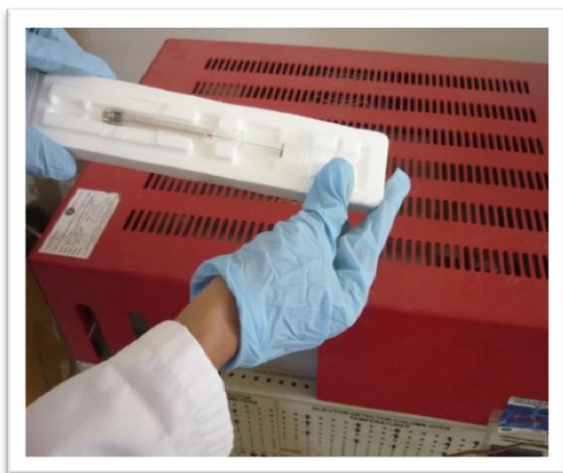
ANEXO No 4. CUANTIFICACIÓN DE COCAÍNA POR CROMATOGRAFÍA DE GASES.



FOTOGRAFÍA No. 7. PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS PARA LA INYECCIÓN EN EL CROMATÓGRAFO DE GASES.



FOTOGRAFÍA No. 8. CROMATÓGRAFO DE GASES



FOTOGRAFÍA No. 9. INYECCIÓN DE LA MUESTRA EN EL CROMATÓGRAFO DE GASES.

ANEXO No 5. ESTADÍSTICA DE LA REGRESIÓN Y ANÁLISIS DE VARIANZA PARA EL ANÁLISIS DE LINEALIDAD DEL MÉTODO CROMATOGRAFÍA DE GASES

ESTADÍSTICAS DE LA REGRESIÓN	
Coeficiente de correlación multiple	0,999724833
Coeficiente de determinación R^2	0,999724833
R^2 ajustado	0,999415351
Error típico	0,010648056
Observaciones	18

T - STUDENT: ANÁLISIS DE VARIANZA						
	<i>Grados de libertad</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Valor crítico de F</i>	<i>Probabilidad</i>
Regresión	1	3,295004509	3,295004509	29061,31	1,65093E-27	0,003325185
Residuos	16	0,001814098	0,000113381			
Total	17	3,296818607				
	<i>Coefficientes</i>	<i>Error típico</i>	<i>Estadístico t</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Inferior 95%</i>	<i>Superior 95%</i>
Intercepción	-0,019719	0,005723158	3,445475162	3,65093E-05	0,031851554	0,007586446
Pendiente	1,002093733	0,005878282	170,4738079	1,32518E-27	0,989632325	1,014555142

ANEXO No 6. ESTADÍSTICA DE LA REGRESIÓN PARA EL ANÁLISIS DE LA EXACTITUD.

Resultados		
Media	98.88	
Tamaño de la muestra	36	
Valor a contrastar	100.00	
Nivel de confianza	95.0%	
Media	IC (95.0%)	
Intervalo de confianza	0,3677458	
	(99.63 – 100,36)	
Prueba t para una media		
Estadístico t	Grados de libertad	Valor p
-6,162187	35	4,7239 E-07

